Aus der Medizinischen Klinik E
der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. H. Zimmermann

ÜBERPRÜFUNG DER ANWENDBARKEIT EINES MIKROSÄULENTESTSYSTEMS ZUR BESTIMMUNG DER GLYKOSYLIERTEN HÄMOGLOBINE IN DIAGNOSTIK UND STOFFWECHSELKONTROLLE DES DIABETES MELLITUS

DISSERTATION
zur
Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

ANNEDORE MOLLY
und
HANS-JÜRGEN SIEBECK

1982

1981

Aus der Medizinischen Klinik E
der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. H. Zimmermann

ÜBERPRÜFUNG DER ANWENDBARKEIT EINES MIKROSÄULENTESTSYSTEMS ZUR BESTIMMUNG DER GLYKOSYLIERTEN HÄMOGLOBINE IN DIAGNOSTIK UND STOFFWECHSELKONTROLLE DES DIABETES MELLITUS

DISSERTATION
zur
Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

ANNEDORE MOLLY
und
HANS-JÜRGEN SIEBECK

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof.Dr. G.Arnold

Referent
gez.: Prof.Dr. M.Berger

Korreferent
gez.: Prof.Dr. H.Reinauer

Druck: aku-Fotodruck, Gleueler Str. 217,
5000 Köln 41, Tel. 0221/437257

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	Seite 1
1.1.	Problematik des Diabetes Mellitus	Seite 2
1.1.1.	Diagnostik des Diabetes Mellitus	Seite 2
1.1.2.	Glukosestoffwechselkontrolle bei Diabetes Mellitus	Seite 4
1.2.	Die glykosylierten Hämoglobine	Seite 7
1.2.1.	Struktur und chemisch-physikalische Eigenschaften	Seite 7
1.2.2.	Synthese der glykosylierten Hämoglobine	Seite 12
1.2.3.	Qualitative und quantitative Darstellung glykosylierter Hämoglobine	Seite 14
1.2.4.	Beziehung der glykosylierten Hämoglobine zum Diabetes Mellitus	Seite 16

2.	Fragestellung	Seite 21
3.	Patienten und Methoden	Seite 25
3.1.	Bestimmung der glykosylierten Hämoglobin	Seite 26
3.1.1.	Verwendete Methode	Seite 26
3.1.2.	Aufbereitung der Blutproben	Seite 26
3.1.3.	Durchführung der Bestimmung	Seite 27
3.2.	Bestimmung weiterer Laborparameter	Seite 29
3.3.	Durchführung des oralen Glukose=toleranztests	Seite 30
3.4.	Prüfung des Isolab^{R} - Mikrosäulen=testsystems nach Qualitätskriterien	Seite 31
3.4.1.	Patientengut	Seite 31

3.4.2.	Antikoagulanz	Seite 31
3.4.3.	Intra - Assay Variationskoeffizient	Seite 31
3.4.4.	Inter - Assay Variationskoeffizient	Seite 32
3.4.5.	Fast Hb Bestimmung in gewaschenen Erythrozyten	Seite 33
3.4.6.	Vergleich der Isolab^{R} - Mikrosäulen= methode mit der Bio Rad^{R} - Mikro= säulenmethode	Seite 33
3.5.	Untersuchungen an übergewichtigen Patienten	Seite 34
3.5.1.	Oraler Glukosetoleranztest und Fast Hb	Seite 34
3.5.1.1.	Patientengut	Seite 34
3.5.1.2.	Versuchsanordnung	Seite 35
3.5.1.3.	Fettstoffwechselparameter und Fast Hb	Seite 35
3.6.	Beziehungen zwischen den für Diabetes relevanten Stoffwechselparametern und den glykosylierten Hämoglobinen	Seite 36

3.6.1.	Kohlenhydratstoffwechselparameter und Fast Hb bei ambulant behandelten Diabetikern	Seite 36
3.6.1.1.	Patientengut	Seite 36
3.6.1.2.	Versuchsanordnung	Seite 36
3.6.2.	Kohlenhydratstoffwechselparameter und Fast Hb bei stationär behandelten Diabetikern	Seite 37
3.6.2.1.	Patientengut	Seite 37
3.6.2.2.	Versuchsanordnung	Seite 37
3.6.2.3.	Verwendete Kohlenhydratstoffwechsel= parameter	Seite 38
3.6.3.	Andere Stoffwechselparameter und ihre Beziehung zu Fast Hb	Seite 40
3.6.3.1.	Patientengut	Seite 40
3.6.3.2.	Versuchsanordnung	Seite 40
3.6.3.3.	Verwendete Fettstoffwechselparameter	Seite 40
3.6.4.	Verlaufskontrollen mit Hilfe des Fast Hb	Seite 40
3.6.4.1.	Patientengut	Seite 40
3.6.4.2.	Versuchsanordnung und verwendete Labordaten	Seite 41

3.7.	Glykosylierung von Hämoglobin in vitro	Seite 41
3.7.1.	Vorversuch	Seite 41
3.7.2.	Patientengut	Seite 42
3.7.3.	Versuchsanordnung	Seite 42
3.7.4.	Beeinflussung des Fast Hb durch den oralen Glukosetoleranztest	Seite 44
3.7.4.1.	Patientengut	Seite 44
3.7.4.2.	Versuchsanordnung	Seite 44
3.8.	Statistische Auswertung	Seite 45
3.9.	Verzeichnis der benutzten Abkürzungen	Seite 48
4.	Ergebnisse	Seite 50
4.1.	Untersuchungen des Isolab^{R} - Mikro= säulentestsystems im Hinblick auf klinisch-chemische Kriterien	Seite 51

4.1.1.	Verwendung eines Antikoagulanz	Seite 51
4.1.2.	Statistische Qualitätskontrolle	Seite 52
4.1.2.1.	Intra - Assay Variationskoeffizient	Seite 52
4.1.2.2.	Inter - Assay Variationskoeffizient	Seite 52
4.1.3.	Ausschaltung möglicher Störeinflüsse	Seite 54
4.1.4.	Vergleich der Mikrosäulenmethoden	Seite 55
4.1.4.1.	Ergebnisse bei Verwendung der Methoden Bio Rad^{R} und Isolab^{R} 1	Seite 55
4.1.4.2.	Ergebnisse bei Verwendung der Methoden Bio Rad^{R} und Isolab^{R} 2	Seite 57
4.1.4.3.	Ergebnisse bei Verwendung der Methoden Isolab^{R} 1 und Isolab^{R} 2	Seite 59
4.2.	Diabetes Mellitus Screening bei übergewichtigen Personen	Seite 60
4.2.1.	Diagnostik mit Hilfe des oralen Glukosetoleranztest	Seite 60
4.2.2.	Diagnostik durch Messung des Fast Hb Spiegels	Seite 61

4.2.3.	Vergleich der Ergebnisse beider Untersuchungen	Seite 61
4.2.4.	Beziehungen zwischen Fast Hb und 2-h OGTT	Seite 69
4.2.5.	Fettstoffwechselparameter und Fast Hb	Seite 70
4.3.	Abhängigkeit des Fast Hb Spiegels von der Stoffwechsellage diabetischer Patienten	Seite 71
4.3.1.	Kohlenhydratstoffwechsel und Fast Hb bei ambulant behandelten Diabetikern	Seite 71
4.3.2.	Kohlenhydratstoffwechsel und Fast Hb bei stationär behandelten Diabetikern	Seite 74
4.3.2.1.	Beobachtung über 2 Tage	Seite 74
4.3.2.2.	Beobachtung über 7 Tage	Seite 79
4.3.2.2.	Beobachtung über 14 Tage	Seite 82
4.3.2.3.	Beobachtung über 21 Tage	Seite 84
4.3.3.	Beeinflussung des Fast Hb Wertes durch Verschlechterung oder Entgleisung des Glukosestoffwechsels	Seite 86

4.4.	In vitro Versuche mit Vollblut und D - Glukose	Seite 90
4.4.1.	Vorversuch	Seite 90
4.4.2.	In vitro Versuch mit Blutproben nichtdiabetischer Probanden	Seite 91
4.4.3.	In vitro Versuch mit Blutproben diabetischer Patienten	Seite 93
4.4.4.	In vitro Versuch mit diabetischen, hyperlipämischen Blutproben	Seite 96
4.4.5.	Zusammenfassung der in vitro Ergeb= nisse	Seite 99
4.4.6.	Fast Hb Bestimmung vor und nach oralem Glukosetoleranztest	Seite 103
5.	Diskussion	Seite 106

5.1.	Durchführung der Fast Hb Bestimmung mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentest= system	Seite 107
5.1.1.	Reproduzierbarkeit der Testergebnisse	Seite 107
5.1.2.	Beeinflussung der Testergebnisse	Seite 111
5.2.	Fast Hb und Glukosintoleranz bei übergewichtigen Patienten	Seite 113
5.3.	Bewertung der Stoffwechsellage diabetischer Patienten mit Hilfe des Fast Hb	Seite 116
5.3.1.	Kohlenhydratstoffwechsel und Fast Hb	Seite 116
5.3.2.	Fettstoffwechsel und Fast Hb	Seite 122
5.4.	Glykosylierung von Hämoglobin	Seite 125
5.4.1.	Diskussion der Versuchsanordnung	Seite 125
5.4.2.	Einfluß von Glukosekonzentrations= änderungen auf das Fast Hb	Seite 127

6. Zusammenfassung Seite 133

7. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen Seite 138

7.1. Verzeichnis der Tabellen Seite 138

7.2. Verzeichnis der Abbildungen Seite 143

8. Literaturverzeichnis Seite 146

1. Einleitung

1.1. Problematik des Diabetes Mellitus

1.1.1. Diagnostik des Diabetes Mellitus

Der manifeste Diabetes Mellitus ist charakterisiert durch Hyperglykämie, die bei Überschreiten der Nierenschwelle mit einer sogenannten Überlaufglukosurie einhergeht. Die dadurch bedingte osmotische Polyurie führt zu einer Polydipsie. Diese Symptome erleichtern die Diagnose "Diabetes Mellitus".

Schwierigkeiten entstehen, wenn die Erkrankung weniger stark ausgeprägt ist, und wenn die obengenannten Zeichen fehlen oder nur teilweise vorhanden sind. Die Beurteilung des Blutglukoseverhaltens muß daher in jedem Fall auf objektive Kriterien gestützt werden. Dazu werden verschiedene Laborparameter herangezogen.

Routinemäßig wird häufig neben der Bestimmung des Nüchternblutzuckers und des postprandialen Blutzuckers die Glukosetoleranz durch Belastungstests untersucht. Zusätzlich wird die Glukose im 24-h Urin bestimmt. Normalerweise beträgt die Glukosekonzentration im Nüchternblut 60 - 100 mg/dl. Werte über 130 mg/dl, gemessen im Kapillarblut, gelten als pathologisch (44). Eine Einschränkung erfährt dieses Verfahren jedoch dadurch, daß der Nüchternblutzucker trotz des Vorliegens eines Diabetes Mellitus normale Werte aufweisen kann, so

z.B. bei Frühformen, aber auch beim manifesten Diabetes, besonders wenn es sich um den sogenannten Erwachsenentyp handelt (95). Nach längerem Fasten kann der Nüchternblutzucker auch bei manifestem Diabetes Mellitus im Normbereich sein.

Es ist somit nicht möglich, einen Diabetes Mellitus allein mit Hilfe der Nüchternblutzuckermessung zu diagnostizieren, sofern der Wert nicht über 130 mg/dl liegt (44). Einige Autoren empfehlen daher auch, auf die Bestimmung des Nüchternblutzuckers zu verzichten (94).

Eine bessere Diagnosemöglichkeit bietet der orale Glukosetoleranztest (OGTT). Hierbei zeigt sich besonders deutlich, daß es keine scharfe Trennlinie zwischen Stoffwechselgesunden und Diabetikern gibt (44). Bei einem 2-h Blutzuckerwert von mehr als 120 mg/dl und weniger als 140 mg/dl ist die Diagnose einer Glukoseintoleranz bzw. eines Diabetes Mellitus fraglich (94). Der Nachteil dieser Methode liegt in ihrer schlechten Reproduzierbarkeit (44) und in der notwendigen Vorbereitung des Patienten (109), möglicherweise auch in der Zuführung relativ unphysiologischer Glukosemengen.

Die Messung des postprandialen Blutzuckers 1 Stunde nach einer kohlenhydratreichen Mahlzeit wird ebenfalls zur Diagnose herangezogen. Auch hier gibt es einen fraglich pathologischen Bereich zwischen 120 mg/dl und 160 mg/dl (103).

Die qualitative Bestimmung der Glukose im 24-h Urin hat den Vorteil einer zeitintegrierenden Messung

der Stoffwechselleistung. Glukosenachweis im Nüchternharn bzw. zu einer beliebigen Tageszeit ist wenig aussagekräftig (42).Eine Glukosurie im 24-h Urin beweist jedoch nicht notwendigerweise das Vorliegen eines Diabetes Mellitus. Die Bewertung eines solchen Glukosenachweises ist an das Vorhandensein einer normalen Nierenschwelle gebunden (71). Schwangere können, bedingt durch eine physiologische Erhöhung des glomerulären Filtrats bei gleichbleibender Rückresorptionsrate für Glukose, eine Glukosurie zeigen, die nach der Geburt in der Mehrzahl der Fälle nicht mehr nachzuweisen ist (90).

Ein subklinischer Diabetes Mellitus wird nur durch Provokationstests wie den oralen Glukosetoleranztest erfaßt, wobei der Nüchternblutzucker häufig im Normbereich liegt (49). Diese Form des Diabetes ist vermehrt bei adipösen Patienten anzutreffen. In diesen Fällen ist eine Früherfassung besonders wichtig, weil eine passagere Glukoseintoleranz vorliegt, die durch Gewichtsreduktion und diätetische Maßnahmen möglicherweise normalisiert werden kann (63). Die Manifestation eines Diabetes Mellitus mit nachfolgenden Spätkomplikationen kann eventuell sogar verhindert werden (8).

1.1.2. Glukosestoffwechselkontrolle bei Diabetes Mellitus

Der Glukosestoffwechsel des diabetischen Patienten muß ständig kontrolliert werden. Dazu werden im Prinzip die gleichen Verfahren benutzt wie für die Diagnose.

Außer den schon genannten Nachteilen einer Nüchternblutzuckermessung in der Diagnostik, ist im Hinblick auf die Stoffwechselkontrolle noch hinzuzufügen, daß es sich hierbei lediglich um eine punktuelle Messung handelt, die nur die morgendliche Kohlenhydratstoffwechsellage beim nüchternen Patienten erfaßt. Eine längerdauernde nächtliche Hypoglykämie mit niedrigem morgendlichen Nüchternblutzucker steht im Gegensatz zur Hyperglykämie im Tagesverlauf (54). Der Nüchternblutzuckerwert könnte in einem solchen Fall eine gute Stoffwechseleinstellung vortäuschen.

Geringe Störungen des Glukoseverhaltens können durch Messung des postprandialen Blutzuckers etwa 1 Stunde nach Mahlzeiten überwacht werden (94). Im Blutzuckertagesprofil mit mehreren über den Tag verteilten Einzelmessungen werden die Schwankungen des Glukosestoffwechsels sichtbar.

Die quantitative Bestimmung der Glukose im fraktioniert gesammelten 24-h Urin ermöglicht eine Schätzung des Blutglukoseniveaus, integriert über ein Zeitintervall von 24 Stunden (52). Das Ausmaß der Glukosurie kann jedoch durch ein Ansteigen der Nierenschwelle für Glukose im Alter, sowie durch eine diabetische Glomerulosklerose erheblich verändert sein. Die Messung der Glukosemenge im 24-h Urin gibt also möglicherweise im Einzelfall keinen Aufschluß über den Grad der Hyperglykämie des vorangegangenen Sammelzeitraumes (70,95).

Die Beurteilung der Kohlenhydratstoffwechsellage an Hand der genannten Parameter unterliegt verschiedenen Fehlermöglichkeiten. Nichtzuletzt hat der Patient selbst die Möglichkeit, durch sein Verhalten die Kontrolle und Beurteilung seiner Glukosestoffwechsellage zu beeinflussen (95).

Wenn man davon ausgeht, daß die beschriebenen Verfahren zu einer Therapie mit dem Ziel der normoglykämischen Stoffwechsellage führen sollen, wäre es wünschenswert, über einen Kontrollparameter zu verfügen, der über das tatsächliche Glukoseverhalten möglichst objektiv informiert. Der Wert eines solchen Parameters wäre um so größer, je besser die Informationen über die Blutzuckerkonzentrationen für ein größeres Zeitintervall integriert würden, unbeeinflußt durch kurzfristige Therapieänderungen oder Verhaltensänderungen des Patienten. Dadurch ergäbe sich ein objektives, nicht von punktuellen Einzelmessungen abhängiges Bild der Stoffwechsellage. Eine danach ausgerichtete Therapie könnte individueller den Bedürfnissen angepaßt werden.

Die Stoffwechselkontrolle des Diabetes Mellitus gewinnt zunehmend an Bedeutung, seitdem zahlreiche Autoren durch zum Teil langjährige Untersuchungen nachweisen konnten, daß ein enger Zusammenhang zwischen der Qualität der Stoffwechseleinstellung und dem Ausmaß von diabetischen Spätkomplikationen besteht (22,23,128). Dabei geht es nicht allein um Spätkomplikationen, die sich oft erst nach langjähriger Krankheitsdauer bemerkbar machen.

Bereits in diabetischen Frühstadien wurden Kapillar=basalmembranveränderungen (116) bzw. deren Fort=schreiten nach Manifestation des Diabetes beobachtet (91).

In einer über mehr als 30 Jahre geführten prospek=tiven Studie wies Pirart (104) nach, daß allein bei den über lange Zeit besonders gut eingestellten Diabetikern die Rate der Spätkomplikationen gering gehalten werden konnte, während sie bei den schlecht eingestellten Patienten sehr hoch war. Selbst bei schon manifestierten diabetischen Spätkomplikationen konnte beobachtet werden, daß eine Verbesserung der Stoffwechselkontrolle und damit der Stoffwechsel=lage im Stande war, die Progredienz der Spätkom=plikationen aufzuhalten (58)

1.2. Die glykosylierten Hämoglobine

1.2.1. Struktur und chemisch-physikalische Eigenschaften

Hämoglobin ist ein zusammengesetztes Chromoprotein, welches aus einem Protein(Globin)- und einem Pro=toporphyrinanteil besteht. Die Synthese des Protein=anteils wird durch vier Genpaare kontrolliert, die für die Bildung von vier verschiedenen Polypeptid=ketten vom Typ α und β verantwortlich sind. Jedes Hämoglobinmolekül besteht aus vier Polypeptid=ketten zweier Typen. Als prosthetische Gruppe fun=giert für jede Polypeptidkette ein Hämmolekül. Die Proteinkomponenten des Hämoglobinmoleküls eines

erwachsenen Menschen bestehen zu 97,5 % aus 2α und 2β Ketten (Hb A) und zu 2,5 % aus 2α und 2δ Ketten ($Hb A_2$) (16).

Mit Hilfe chromatographischer Trennverfahren wurden zusätzlich kleinere Hämoglobinfraktionen nachgewiesen und entsprechend der Reihenfolge der Eluierung als $Hb A_{1a}$, $Hb A_{1b}$ und $Hb A_{1c}$ bezeichnet (4). Sie wurden beschrieben als normale Hämoglobinbestandteile, die in relativ gleichbleibender Konzentration in den Erythrozyten gesunder Erwachsener vorkommen, nämlich $Hb A_{1a+b}$ mit 1,3 - 3,7 % und $Hb A_{1c}$, das den größten Anteil ausmacht, mit 4,3 - 6,6 % des Gesamthämoglobins (27,69).

Holmquist und Schroeder (66,67) konnten zeigen, daß $Hb A_{1c}$ strukturell identisch ist mit Hb A außer, daß eine N - terminale Aminogruppe am Valin der β - Kette durch eine unbekannte Gruppe blockiert ist.

Das chromatographische Verhalten von $Hb A_{1c}$ wies auf eine "negative Ladung" der unbekannten Gruppe hin. Die Untersuchungen zeigten, daß ein Aldehyd oder Keton über eine Schiff´sche Base an die N - terminale Aminosäure der β - Kette gebunden ist.

Bookchin und Gallop (13) fanden heraus, daß die N - terminalen Valinreste beider β - Ketten an jeweils ein Hexosemolekül gekoppelt sind. Dixon (37) beobachtete, daß bei der Reaktion von Valylhistidin mit Glukose ein Produkt entsteht, das sich in seinen chromatographischen, elektrophoretischen und chemischen Eigenschaften nicht von der von

Holmquist und Schroeder (67) beschriebenen Substanz unterscheidet, die durch Proteolyse vom N - terminalen Ende der β - Kette isoliert worden war. Er kam zu dem Schluß, daß Hb A_{1c} durch eine Reaktion zwischen Hb A und Glukose gebildet wird. Dies wurde durch Untersuchungen von Bunn und Mitarbeitern bestätigt (18). Durch Säurehydrolyse konnten sie die reduzierenden Zucker an der β - Kette isolieren und fanden dabei Glukose und Mannose im Verhältnis 3 : 1 .

Durch Behandlung von Hb A_{1c} mit radioaktivem Borhydrid und anschließender Oxidation der β - Kette wiesen sie zusätzlich nach, daß die Glukose an der ß - Kette des Hämoglobins über die N - terminale Aminogruppe des Valins gebunden wird. Dabei entsteht zuerst eine Schiff´sche Base, die sich in einer Amadori - Reaktion von der labilen Aldimin- in die stabile Ketoaminform umwandelt (Abb. 1).

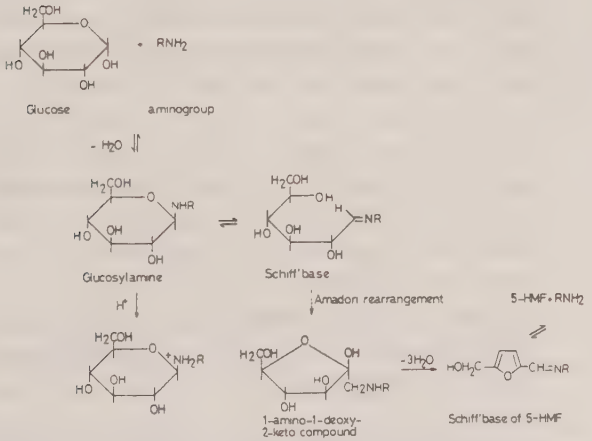

Abb. 1 Synthese von Hb A_{1c} und nachfolgende Umlagerung nach Amadori (46)

Koenig und Mitarbeiter (82) analysierten die Struk= tur von Hb A_{1c}, indem sie das gaschromatographische Verhalten und das mit Hilfe radioaktiver Markie= rungen entstandene Resonanzspektrum von Hb A_{1c} mit dem von synthetischen Modellbindungen verglichen. Auch sie konnten bestätigen, daß die am N-terminalen Ende der β-Kette gebundene Glukose einer Amadori - Reaktion unterliegt.

Für Hb A_{1a} und Hb A_{1b} existieren noch keine einheit= lichen Strukturdefinitionen. Trivelli und Mitarbei= ter (127) postulieren Hb A_{1a} und Hb A_{1b} ebenfalls als Glykoproteine, weil sie die ß - Kette beider Fraktionen in ihrer elektrischen Mobilität ähn= lich dem Hb A_{1c} verändert fanden.

Haney und Bunn (64) konnten nachweisen, daß Glukose - 6 - Phosphat (G - 6 -P) mit desoxygeniertem Hämoglo= bin spezifisch an der N - terminalen Aminogruppe der ß - Kette reagiert und über eine Schiff´sche Base eine kovalente Bindung gebildet wird (Abb. 2). Sie schlossen daraus, daß das Reaktionsprodukt von Hb A mit G-6-P eine Vorstufe in der Entstehung von Hb A_{1c} oder aber identisch mit Hb A_{1a} und Hb A_{1b} sei.

Andere Untersucher (123) beschrieben, daß Hämoglo= bin A mit einer Anzahl von glykolytischen Stoff= wechselprodukten, wie Glukose - 6 - Phosphat, Fruc= tose - 6 - Phosphat oder Fructose - 1.6 - Diphosphat, schneller reagiert als mit Glukose. Voraussetzung für den schnellen Reaktionsablauf war das Vorhan= densein eines Phosphates mit einer freien Aldehyd - bzw. Ketogruppe.

Weitere Untersuchungen von Bunn und Mitarbeitern (20) führten zu der These, daß zwei unterschied=

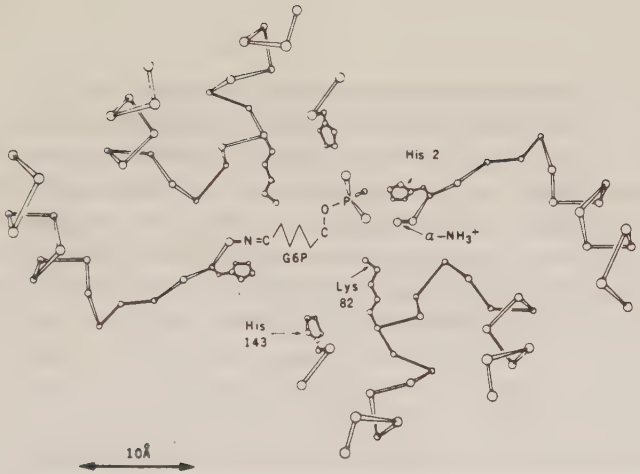

Abb. 2 Schematische Darstellung der kovalenten Bin= dungsorte und der elektrostatischen Interak= tion zwischen G-6-P und Desoxyhämoglobin (5)

Hämo= globin	Prozentanteil am Gesamt Hb (Mean±SEM) normal	diab.	Modifi= zierte Unter= einheit	vermut= liche Struktur
A_{1a1}	0,19 ± 0,02	0,20 ±0,03	ß	α_2(ß-N-FDP)$_2$?
A_{1a2}	0,19 ± 0,40	0,22 ±0,04	ß	α_2(ß-N-G6P)$_2$
A_{1b}	0,48 ± 0,15	0,67 ±0,30	ß	?
A_{1c}	3,30 ± 0,30	7,50 +2,00	ß	α_2(ß-N-Glc)$_2$

Tab. 1 Postsynthetische Strukturveränderungen des Hämoglobins (20)

liche Hb A_{1a} Fraktionen vorkommen. Hb A_{1a1} ist dem= nach das Reaktionsprodukt von Hb A und F-1.6- DP, während Hb A_{1a2} aus der Reaktion zwischen Hb A und G-6-P hervorgeht (Tab. 1). Die Struktur von Hb A_{1b} ist noch nicht eingehend geklärt. Jedoch wird auch hier eine ß - Ketten-modifikation vermutet (134).

Die verminderte positive Ladung an der ß - Kette bedingt, daß die glykosylierten Hämoglobine $Hb\,A_{1a+b+c}$ in der Elektrophorese zur Anode wandern (106). In schwach sauren Anionenaustauscherharzen wird die Fraktion schneller als die des Hämoglobins A eluiert. Daher werden die glykosylierten Hämoglobine insgesamt auch als"Fast Hemoglobins"(Fast Hb) bezeichnet (127).

1.2.2. Synthese der glykosylierten Hämoglobine

Die Überlebenszeit menschlicher Erythrozyten beträgt durchschnittlich 120 Tage (15). Die Glykosylierung von Hämoglobin erfolgt als eine physiologische Reaktion während der gesamten Lebensdauer der Erythrozyten (19). Im Gegensatz zu anderen kleineren Hämoglobinfraktionen wie Hb F und Hb S ist die Synthese der glykosylierten Hämoglobine offensichtlich nicht genetisch kontrolliert (19). Der Glyko - Anteil lagert sich erst nach der Proteinbiosynthese des Hämoglobins (18) innerhalb einer nicht enzymabhängigen Reaktion (46) an. Fitzgibbons und Mitarbeiter (45) stellten in älteren Erythrozyten gegenüber jüngeren einen höheren Anteil des glykosylierten Hämoglobins fest. Dies läßt auf einen langsamen, kontinuierlichen und irreversiblen Vorgang schließen.

Durch Anlagerung von Glukose bzw. von Intermediärprodukten des Glucosestoffwechsels wie Fruktose - 1.6. - Diphosphat oder Glukose - 6 - Phosphat an das Hämoglobin werden unterschiedlich strukturierte

Glykosylierungsprodukte gebildet (Tab.1). Stevens und Mitarbeiter (123) gehen davon aus, daß die Bindung von 1.6-FDP oder G-6-P noch reversibel ist, wenngleich auch sehr langsam. Es ist jedoch ebenso vorstellbar, daß die Verbindung von 1.6-FDP und G-6-P mit Hämoglobin einen Zwischenschritt im Syntheseweg des $Hb\,A_{1c}$ darstellen. Einer langsamen Deglykosylierung von $Hb\,A_{1a1}$ oder $Hb\,A_{1a2}$ könnte demnach eine Dephosphorylierung mit dem Endprodukt $Hb\,A_{1c}$ zuvorkommen (64,123).

Neben der genetischen Unabhängigkeit der Glykosylierung (19) unterstreichen Zwillingsuntersuchungen mit dem Nachweis glykosylierter Hämoglobine bei diabetischen und nichtdiabetischen eineiigen Zwillingspartnern (125) die Unabhängigkeit des Auftretens glykosylierter Hämoglobine vom diabetischen Krankheitsbild. Eine um mehr als 2-fach höhere Konzentration glykosylierter Hämoglobine bei Diabetikern (106) läßt jedoch den Schluß zu, daß die höhere Blutglukosekonzentration der Diabetiker zu einer über das normale Maß hinausgehenden Hämoglobinglykosylierungsrate führt (78,99,100,127).

Wurde im Anschluß an eine hyperglykämische Phase das Glukoseangebot gesenkt, so daß normoglykämische Konzentrationen erreicht wurden, konnte mit einer Verzögerung von einigen Tagen bis Wochen ein Absinken des glykosylierten Hämoglobinanteils beobachtet werden (51). Die Verzögerung wurde durch die Irreversibilität der Bindung erklärt (52). Geschwindigkeitsbestimmend sind die Elimination

alter, mit glykosyliertem Hämoglobin beladener Erythrozyten und die Neubildung junger Erythrozyten mit geringem Glyko - Hämoglobinanteil (46,127).

Bei der Synthese des Glyko - Hämoglobins treten die Glukose bzw. die Glukosestoffwechselmetaboliten in Konkurrenz mit 2.3 - Diphosphoglycerat (2.3-DPG). 2.3-DPG kommt in großen Mengen in den menschlichen Erythrozyten vor (18) und hat seinen Wirkort dort, wo sich auch die Bindungsstelle des Glyko - Anteils an das Hämoglobin befindet (34). Ein Abfall des PH - Wertes im Blut und ein verminderter Gehalt an 2.3-DPG in den Erythrozyten - beides charakteristisch für die diabetische Ketoazidose - führen zu einer Verschiebung der Sauerstoffbindungskurve nach links, d.h. zu einer erhöhten O_2- Affinität des Hämoglobins (2,23,107). Die kompetitive Verdrängung von 2.3-DPG durch die Glykosylierung des Hämoglobins entspricht einer intraerythrozytären Verminderung an 2.3-DPG (64). Dies zeigt sich in einer erhöhten Sauerstoffaffinität von $Hb\,A_{1c}$ (17).

1.2.3. Qualitative und quantitative Darstellung glykosylierter Hämoglobine

Zur Darstellung der glykosylierten Hämoglobine haben sich inzwischen verschiedene Verfahren etabliert. Dabei werden die elektronegativen Eigenschaften der Glyko - Hämoglobin - Komponenten zur elektrophoretischen und chromatographischen Auftrennung genutzt.

Zum qualitativen Nachweis der schnellwandernden glykosylierten Hämoglobinfraktionen benutzte Rahbar 1968 die Stärkeblockelektrophorese (105). Quantitative Bestimmungen des $Hb\,A_{1c}$ im Blut von Diabetikern und Nichtdiabetikern gelang mit Hilfe der Säulenchromatographie (106). Trivelli und Mitarbeiter beschrieben 1971 eine Makrosäulen= methode für die getrennte Bestimmung der Fraktio= nen $Hb\,A_{1a+b}$ und $Hb\,A_{1c}$ (127). Bei der Beurteilung anderer Techniken zur Bestimmung des glykosylierten Hämoglobins dient die Trivellimethode gewöhnlich als Referenzverfahren (1,84,92).

Der Nachteil dieses Verfahrens liegt in dem großen Zeitaufwand der Probenvorbereitung und der mehr= stündigen Laufzeit der Makrosäulenchromatographie. Kynoch und Lehmann beschrieben als erste eine Mikrosäulentechnik, mit deren Hilfe die Fraktionen $Hb\,A_{1a+b+c}$ als Fast Hb bestimmt werden (84). Der Zeitaufwand soll für die gesamte Messung einschließ= lich der Probenvorbereitung nicht mehr als 2,5 Stunden betragen. Welch und Boucher entwickel= ten ebenfalls eine Mikrosäulentechnik zur Bestim= mung von $Hb\,A_1$, das dem Fast Hb entspricht (131). Die von Clarke und Canivet (26) beschriebene Mikro= säulenmethode ermöglicht die isolierte Messung des $Hb\,A_{1c}$.

Als weiteres chromatographisches Verfahren wird die Hochdruckflüssigkeits - Chromatographie an= gewandt (28,31). Dabei können $Hb\,A_{1a+b}$ und $Hb\,A_{1c}$ getrennt oder gemeinsam ($Hb\,A_1$) dargestellt werden. Die Trenndauer soll bei etwa 30 Minuten liegen.

Der gemeinsame Nachteil aller chromatographischen Methoden zur Bestimmung glykosylierter Hämoglobine ist die Interferenz mit pathologischen Hämoglobinfraktionen wie Hb F (92), Hb S oder Hb C (3). Sind solche pathologischen Hämoglobine in den Erythrozyten vorhanden, werden die Werte für $Hb A_1$ verfälscht.

Neben einer Bestimmung mit einem Radio-Immuno-Assay (73a), ist eine quantitative Bestimmung der glykosylierten Hämoglobine auch durch Elektrofokussierung möglich (115,119). Der Vorteil des letzten Verfahrens ist, daß Meßfehler, die durch genetische Hämoglobinopathien bedingt sind, ausgeschlossen werden können (119).

Flückiger und Winterhalter stellten zusätzlich zu den chromatographischen, elektrophoretischen und radio-immunologischen Auftrennververfahren eine colorimetrische Methode (TBA-Methode) zur Bestimmung des $Hb A_{1c}$ vor (46).

1.2.4. Beziehungen der glykosylierten Hämoglobine zum Diabetes Mellitus

Die Beziehung zwischen den "Fast Hemoglobins" und dem Diabetes Mellitus wurden zuerst von Huisman und Dozy entdeckt (68). Sie fanden bei Diabetikern, die mit Sulfonylharnstoffen behandelt wurden, eine 2 - 3 fach höhere Konzentration von $Hb A_{1a+b+c}$. Rahbar (105) bemerkte während einer Studie an 1200 Patienten bei 2 von ihnen ein "abnormales" Hämoglobin. Beide Patienten waren Diabetiker. Das "diabetische" Hämoglobin konnte durch

chromatographische und elektrophoretische Unter=suchungen als das von Allan und Schroeder bereits 1958 (4) gefundene Hb A_{1c} identifiziert werden(106).

Hb A_{1c} wurde ebenfalls in erhöhter Konzentration bei jugendlichen Diabetikern gefunden (99). Die Höhe der Hb A_{1c} Werte stand in keiner Beziehung zum Alter der Patienten, zur Diabetesdauer, Therapie oder dem Vorhandensein von Spätkomplikationen. Der Anteil der glykosylierten Hämoglobine wurde um so höher gemessen, je niedriger die Insulinsekretion des Pankreas war (100). Demgegenüber fanden andere Untersucher keine Korrelation zwischen Fast Hb und der Insulinbasalsekretion (60).

Tattersall und Mitarbeiter (125) konnten durch Zwillingsuntersuchungen zeigen, daß erhöhte Anteile glykosylierter Hämoglobine nicht auf genetische Faktoren zurückzuführen sind, sondern eher aus einer diabetischen Stoffwechselstörung resultieren.

Ein Anstieg der glykosylierten Hämoglobine bei Mäusen und Affen mit artefiziellem Diabetes Mellitus (80,133) verdeutlicht, daß die Hyperglykämie ent=scheidend für erhöhte Hb A_1 Werte bei Diabetikern ist (60).

Gestützt auf die Erkenntnisse über Struktur und Synthese von Hb A_{1a}, Hb A_{1b} und Hb A_{1c} (18,19,33, 45,46,82) sollte der Anteil der glykosylierten Hämoglobine am Gesamt - Hämoglobin die durch=schnittliche Glukosekonzentration widerspiegeln, die während der gesamten Lebensdauer der Erythro=zyten vorherrschend war.

Zahlreiche Untersuchungen haben sich mit der Anwendung der Messung glykosylierter Hämoglobine in Diagnostik und Kontrolle des Diabetes Mellitus beschäftigt. Dabei sind die Fraktionen einzeln als $Hb\,A_{1a+b}$ und $Hb\,A_{1c}$ oder zusammen als $Hb\,A_{1a+b+c}$ entsprechend dem $Hb\,A_1$ oder Fast Hb bestimmt worden. Ditzel und Mitarbeiter (35) sehen im $Hb\,A_{1c}$ einen empfindlichen Indikator für Veränderungen der Glukosetoleranz. Nach Ansicht von Koenig und Mitarbeitern (80) zeigt $Hb\,A_{1c}$ den Grad der Glukoseintoleranz sogar empfindlicher an als der Glukosetoleranztest (OGTT).

Jedoch weist die $Hb\,A_{1c}$ Bestimmung nach Aussage von Santiago (112) gegenüber dem OGTT deutliche Schwächen auf und scheint daher als Screeningtest für den Diabetes Mellitus ungeeignet.

Bei Diabetikern fanden verschiedene Untersucher eine gute Korrelation zwischen dem $Hb\,A_{1c}$ bzw $Hb\,A_1$ und dem Nüchternblutzucker, dem postprandialen Blutzucker und dem OGTT (10,25,41,56,61,80). In anderen Studien konnte eine derartige Beziehung zwischen $Hb\,A_{1c}$ bzw. $Hb\,A_1$ und dem Blutzucker, nüchtern oder postprandial gemessen, nicht gezeigt werden (1,85). Werte der 24-h Glukosurie korrelierten signifikant mit den glykosylierten Hämoglobinen (41,85).

Gabbay und Mitarbeiter (52) beobachteten die engste Korrelation zwischen der 24-h Glukosurie der vorangegangenen 3 Monate und dem $Hb\,A_1$. Sie beurteilen $Hb\,A_1$ als einen Parameter, der Blutglukosespiegel

längerer Zeiträume objektiv integrierend wieder=
gibt.

Andere Untersucher sind ebenfalls der Ansicht, daß mit Hilfe der glykosylierten Hämoglobine eine retrograde Glukosestoffwechselbeurteilung der zurückliegenden 2 - 3 Monate möglich ist (36,76, 121).

Leslie und Mitarbeiter (86) beobachteten einen Anstieg der glykosylierten Hämoglobine bereits 2 Wochen nach Stoffwechselentgleisung mit ausge= prägten Hyperglykämien. Sie gehen davon aus, daß eine einzelne Hb A_1 Messung eine kürzere Hyper= glykämieperiode widerspiegele, als in der übrigen Literatur beschrieben wird (102).

Die Ergebnisse aller Untersuchungen zeigen jedoch hohe Werte für Hb A_1 bzw. Hb A_{1c} bei schlechter Einstellung des Kohlenhydratstoffwechsels dia= betischer Patienten (56).

Auf Grund der Erkenntnisse über die Glykosylierung des Hämoglobins ist zu fragen, ob nicht auch andere Proteine des Körpers einer ähnlichen Reaktion unterworfen sind. In vitro Untersuchungen haben gezeigt, daß eine Glykosylierung von Insulin (39) und Albumin (40) möglich ist. Glykosyliertes In= sulin besitzt jedoch nur noch 80 % seiner ursprüng= lichen biologischen Aktivität. Dies deutet schon daraufhin, daß die Glykosylierung, deren Rate bei Diabetikern auf Grund der mehr oder weniger aus= geprägten Hyperglykämie gegenüber Nichtdiabetikern

erhöht ist, möglicherweise ein biochemisches Modell für diabetische Spätschäden darstellen könnte.

Eine Erklärung für die Entstehung der diabetischen Katarakt ist vielleicht in der Glykosylierung von Augenlinsenproteinen zu sehen (122). Einlagerungen von Glykosylierungsprodukten in die glomerulären Basalmembranen führen zu Verdickung und erhöhter Proteindurchlässigkeit. Die Folge ist die häufig zu beobachtende diabetische Proteinurie (6). Die Glykosylierung von Hämoglobin führt zu verminderter Sauerstoffabgabefähigkeit des $Hb\,A_{1c}$ und daraus resultierender Kapilarbasalmembranverdickung (34). Hierin und in der Akkumulation von Glykosylierungsprodukten in den Gefäßwänden sind Teilaspekte in der Pathogenese der diabetischen Angiopathie zu sehen.

2. Fragestellung

Durch die weitgehende Beherrschbarkeit der Stoffwechselentgleisung des Diabetikers in Akutsituationen ist die Problematik der diabetischen Spätkomplikationen in den Vordergrund getreten. Die Erkenntnisse über Zusammenhänge zwischen Hyperglykämie bzw. Qualität langfristiger Stoffwechseleinstellung und dem Auftreten von Spätkomplikationen haben die Notwendigkeit exakter und objektiver Verlaufskontrollen des Kohlenhydratstoffwechsels bei Diabetikern deutlich gemacht.

Die bisher verwendeten Verfahren sind von der Mitarbeit des Patienten abhängig und können als Einzelmessungen immer nur ein augenblickliches Zustandsbild der Stoffwechsellage widerspiegeln.

Durch ihre strukturellen Eigenschaften nehmen die glykosylierten Hämoglobine eine wichtige Position in Diagnostik und Stoffwechselkontrolle des Diabetes Mellitus ein. Eine pathologische Blutzuckerkonzentration, die zu erhöhter Glykosylierung des Hämoglobins führt, kann bei längerem Andauern der Hyperglykämie auf Grund der irreversiblen Bindung des Glyko - Anteils an das Hämoglobin noch einige Wochen später an Hand erhöhter Anteile der glykosylierten Hämoglobine am Gesamthämoglobin festgestellt werden. Diesen besonderen Hämoglobinen wird auf diese Weise eine integrierende Funktion übertragen, die viele Einzelmessungen über einen längeren Zeitraum zu einem einzigen Parameter zusammenfaßt.

Aus diesem Grunde scheint der Einsatz der glykosylierten Hämoglobine in Diagnostik und

Stoffwechselkontrolle des Diabetes Mellitus sinnvoll. Kurzdauernde Schwankungen des Blut= glukoseniveaus sollen nicht erfaßt und somit aus= gefiltert werden. Bisher können einzelne Blutzucker= spitzen oder auch kurzzeitige Hypoglykämiephasen punktuelle Messungen wie die Nüchternbluzucker= bestimmung verfälschen.

Die Verknüpfung von Kohlenhydratstoffwechsel und Fettstoffwechsel machen den Diabetes Mellitus unter anderem zu einem Risikofaktor der koronaren Herzkrankheit. Auf Grund des protektiven Charak= ters hoher HDL - Cholesterinspiegel, sowie nie= driger Konzentrationen von glykosylierten Hämo= globinen bei längerfristig gut eingestellten Diabetikern ist eine Beziehung zwischen diesen beiden Parametern zu vermuten. Die Konzentration sowohl von HDL - Cholesterin, als auch von Glyko - Hämoglobin resultieren aus der Qualität der Stoffwechseleinstellung.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob sich das Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem, das die glykosylierten Hämoglobine Hb A_{1a+b+c} zu= sammen als Fast Hb bestimmt, für die Diagnostik und die Stoffwechselkontrolle des Diabetes Mellitus eignet.

Zunächst soll die Frage geklärt werden, ob das Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem unter dem Ge= sichtspunkt klinisch - chemischer Kriterien für die Verwendung in einer Routineuntersuchung ge= eignet ist.

Die Eignung des Fast Hb, bestimmt mit Isolab^{R}, für die Diagnostik von Kohlenhydratintoleranzen soll an Hand von Untersuchungen an übergewichtigen Patienten geklärt werden. Dabei werden die Ergebnisse eines zusätzlich durchgeführten oralen Glukosetoleranztests mit denen der Fast Hb Bestimmung verglichen.

Die Qualität des mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem gemessenen Fast Hb als Langzeitparameter für die Beurteilung der Kohlenhydratstoffwechsellage sollen Untersuchungen an ambulant und stationär behandelten Diabetikern zeigen. Dabei soll auch untersucht werden, welche Beziehung zwischen Fast Hb und Fettstoffwechselparametern bestehen. Hierbei ist neben den Serumtriglyzeriden und dem Serumcholesterin vor allem das HDL - Cholesterin von Bedeutung.

Das Fast Hb muß als Langzeitparameter einen repräsentativen Querschnitt der Kohlenhydratstoffwechsellage eines längeren Zeitraumes widerspiegeln, ohne durch kurzfristige Blutzuckerkonzentrationsänderungen beeinflußt zu werden. Ob das Fast Hb, bestimmt mit Isolab^{R}, empfindlich gegen kurzfristige Glukosekonzentrationsschwankungen ist, sollen in vitro Untersuchungen zeigen.

3. Patienten und Methoden

3.1. Bestimmung der glykosylierten Hämoglobine

3.1.1. Verwendete Methode

Die glykosylierten Hämoglobine wurden mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem zur Bestimmung des Fast Hb als prozentualer Anteil am Gesamt= hämoglobin gemessen. Das Fast Hb entspricht den glykosylierten Hämoglobinfraktionen Hb A_{1a+b+c}. Das Funktionsprinzip gleicht dem von Kynoch und Lehmann (84) beschriebenen Verfahren.

Für einen Vergleich mit der Isolab^{R} - Mikro= säulenmethode wurde auch die Bio Rad^{R} - Mikro= säulenmethode herangezogen die ebenfalls das Hb A_1 bzw das Fast Hb als Prozentanteil des Ge= samthämoglobins mißt.

3.1.2. Aufbereitung der Blutproben

Die aus dem venösen Blut diabetischer und nicht= diabetischer Probanden gewonnenen Proben wurden unmittelbar nach der Entnahme in K^{+}-EDTA Röhrchen antikoaguliert und anschließend sofort untersucht. Konnte die Untersuchung nicht unmittelbar nach der Probenentnahme stattfinden, so wurden die Proben bei + 2° C kühl gelagert oder auf - 18° tiefgefroren. Für eine Prüfung des Einflusses von K^{+}-EDTA auf das Meßergebnis wurde bei einigen Blutproben auf das Antikoagulieren mit K^{+} -EDTA verzichtet.

3.1.3. Durchführung der Bestimmung

Die Bestimmung des Fast Hb Wertes erfolgte aus dem Vollblut entsprechend der Arbeitsanleitung der Firma Isolab^{R} für das Fast Hb Mikrosäulen=testsystem.

Vor der Durchführung der Bestimmung wurden Rea=genzien, Chromatographiesäulen und die zu unter=suchenden Blutproben auf eine Raumtemperatur von 22 - 24° c gebracht. Die Proben waren dabei licht=geschützt untergebracht. 100 µl Vollblut wurden mit 400 µl Hämolysereagenz während 10 Minuten hämolysiert. Der obere und der untere Verschluß der Chromatographiesäulen wurden entfernt, die in der Säule befindliche Pufferlösung konnte ab=laufen. Bei genügend hoher Flußrate wurde mit Hilfe einer Glaspipette die obere Säulenmembran vorsichtig auf das Säulenbett geschoben. 50 µl des Hämolysats wurden auf die Säulenmembran pi=pettiert. Mit 200 µl der zum Testsystem gehörenden Eluierlösung Nr. 1 wurde das Hämolysat in die Säule eingeschwemmt und die Oberfläche des Ionenaus=tauscherharzes benetzt. Das gewonnene Eluat wurde ver=worfen. Nach Aufpipettieren von 4 ml Eluierlösung Nr. 1 wurde anschließend die Fast Hb Fraktion ge=wonnen. Die Eluierdauer betrug hierfür zwischen 30 und 45 Minuten.

Während die übrige Hämoglobinfraktion nach Hin=zufügen von 4 ml Eluierlösung Nr. 2 des Testsystems gesammelt wurde, konnte die optische Dichte des Fast Hb Eluats mit einem Beckman Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von λ = 415 nm bestimmt

werden. Das Eluat der übrigen Hämoglobinfraktion wurde vor der photometrischen Messung mit 16 ml aqua destillata verdünnt.

Der Anteil der Fast Hb Fraktion am Gesamthämoglobin wurde nach der Formel

$$\% \text{ Fast Hb} = \frac{A}{A + 5H} \times 100$$

errechnet. A bezeichnet die photometrische Absorption des Fast Hb Eluats, H kennzeichnet die Absorption des Eluats der übrigen Hämoglobinfraktion. Mit Hilfe dieser Formel wird der Fast Hb Wert als Prozentanteil des Gesamthämoglobins ausgedrückt.

Es wurde, falls nicht anders beschrieben, der Mittelwert zweier Bestimmungen verwendet. Durch Anwendung eines alternativen Verfahrens konnte die Durchführungszeit der Bestimmung verkürzt werden. Dabei wurde die übrige Hämoglobinfraktion nicht mit der Lösung Nr. 2 eluiert, sondern 50 µl Gesamthämolysat wurden mit 4 ml Lösung Nr. 2 und 16 ml aqua dest. verdünnt und sofort photometrisch gemessen. In der hier benutzten Formel

$$\% \text{ Fast Hb} = \frac{A}{5 \times T} \times 100$$

ist für T der Absorptionswert der Total - Hämoglobinlösung einzusetzen. Dieses alternative Verfahren fand jedoch nur in einem Vergleich mit der Bio Rad^{R} - Mikrosäulenmethode Anwendung.

Für die Durchführung der Hb A_1 Bestimmung nach der Bio Rad^{R} - Technik wurden 100 µl Vollblut

mit 500 µl Bio Rad^{R} Hämolysereagenz während 5 Minuten hämolysiert. Nach Durchfluß der Puffer= lösung wurden 100 µl Hämolysat auf das Säulen= bett aufpipettiert. Die Hb A_1 Fraktion wurde nach Zugabe von 10 ml Eluierlösung gesammelt und bei λ = 415 nm gemessen. Die übrige Hämoglobin= fraktion wurde dadurch bestimmt, daß 10 ml Eluier= lösung mit 20 µl des Hämolysats gemischt und dann photometrisch gemessen wurden. Der prozentuale Anteil des Hb A_1 vom Gesamthämoglobin wurde nach der Formel

$$\% \text{ Hb } A_1 = \frac{A}{5 \times B} \times 100$$

errechnet, wobei für A die photometrische Ab= sorption des Hb A_1 Eluats und für B die Absorp= tion des verdünnten Gesamthämolysats einzusetzen ist.

Als Normalbereich gelten bei der Isolab^{R} Methode Fast Hb Werte von 5,5 bis 8,5 %, bei der Bio Rad^{R} Methode Hb A_1 Werte von 4,15 bis 9,08 % vom Gesamthämoglobin.

3.2. Bestimmung weiterer Laborparameter

Als Laborparameter wurden zusätzlich herange= zogen : Blutglukose, Glucosurie im 24-h Sammel= urin, Gesamttriglyceride im Serum, Gesamtchole= sterin im Serum, HDL - Cholesterin im Serum. Die Bestimmung der Blutglukose erfolgte nüchtern und postprandial aus dem Kapillarblut mittels eines Technicon^{R} Autoanalyzers.

Die Glukosekonzentration im 24-h Sammelurin wurde polarimetrisch ermittelt.

Das Serumcholesterin wurde nach der CHOD - PAP Methode (Boehringer Mannheim GmbH) im enzymatischen Farbtest gemessen. Die Serumtriglyceride wurden vollenzymatisch (Boehringer Mannheim GmbH) bestimmt. Beide Tests wurden im Autoanalyzer durchgeführt.

Die HDL - Cholesterinfraktion wurde aus dem Nüchternblut nach dem von Burstein und Mitarbeitern (21) und Lopes - Virella und Mitarbeitern (88) beschriebenen Verfahren bestimmt. Zur Durchführung wurde eine kommerziell angebotene HDL - Cholesterin - Kombination (Boehringer Mannheim GmbH) angewandt.

3.3. Durchführung des oralen Glucosetoleranztests

Bei allen Patienten, die sich dem oralen Glukosetoleranztest (OGTT) unterzogen, wurde zuerst der Nüchternblutzucker in der schon beschriebenen Weise bestimmt.

Anschließend erfolgte die orale Gabe von 100 g Glukose. Dazu wurde kommerziell angebotener Traubenzucker (Dextroenergen^{R}) verwendet. Zwei Stunden nach der Glukosebelastung wurde erneut die Glukosekonzentration im Kapillarblut bestimmt.

3.4. Prüfung des Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystems nach Qualitätskriterien

3.4.1. Patientengut

Für die Prüfung des Isolab^{R} - Mikrosäulen= testsystems nach Laborkriterien wurde Venen= blut verwendet, das von stationär mit Insulin behandelten Diabetikern stammte. Die Blutent= nahme erfolgte an nüchternen Patienten.

Alter und Geschlecht, sowie die Erkrankungsdauer und der Diabetestyp der Patienten waren unter= schiedlich.

3.4.2. Antikoagulanz

In 9 Versuchsreihen wurde der Fast Hb Wert sowohl aus dem Frischblut, als auch aus dem mit K^{+} -EDTA versetzten Vollblut parallel gemessen. Jeder Fast Hb Wert wurde fünffach bestimmt.

Für jede Fünffachbestimmung wurden Mittelwert ($\bar{M}$), Standardabweichung (SD) und Variationsko= effizient (VK) errechnet.

3.4.3. Intra - Assay Variationskoeffizient

Der Fast Hb Wert aus 5 Blutproben wurde jeweils 1o - fach bestimmt. Aus jeder 10 - fach Bestim=

mung wurden der Mittelwert ($\bar{M}$), die Standard= abweichung (SD) und der Variationskoeffizient (VK) errechnet.

3.4.4. Inter - Assay Variationskoeffizient

Mit dem Inter - Assay Variationskoeffizient wurde gleichzeitig die Haltbarkeit einer Blut= probe für die Fast Hb Bestimmung geprüft.

Das Blut eines nichtdiabetischen Probanden wurde am ersten Versuchstag in größerer Menge venös entnommen. Der Fast Hb wurde als Aus= gangswert sofort bestimmt. Die übrige Blut= menge wurde zu je 3 ml in kleine, verschließ= bare Plastikröhrchen umgefüllt.

Eine Hälfte dieser Proben (Versuchsreihe 1) wurde bei + 2° C gekühlt gelagert, während die andere Hälfte der Proben bei - 18° tiefgefroren gelagert wurde (Versuchsreihe 2). Am 2. Versuchstag wurde mit einer Standardversuchsreihe begonnen (Ver= suchsreihe 3), innerhalb derer der Fast Hb Wert aus dem von Isolab^{R} hergestellten Standard be= stimmt wurde. Dies diente der Absicherung und Präzisierung der Meßergebnisse aus den Versuchs= reihen 1 und 2.

In allen Versuchsreihen wurde der Fast Hb Wert täglich bestimmt und der Inter - Assay Variations= koeffizient (109) errechnet. Isolab^{R} schreibt für die Reproduzierbarkeitskontrolle von Tag zu

Tag einen maximalen Variationskoeffizienten von ± 6 % vor. Überschritt eine der Versuchsreihen diesen Wert, so wurde sie beendet.

3.4.5. Fast Hb Bestimmung in gewaschenen Erythrozyten

Aus 10 entnommenen Blutproben wurde der Fast Hb Wert sofort bestimmt. Anschließend wurden die Proben im Verhältnis 1 : 10 mit 0,9 % iger NaCl - Lösung versetzt und 3 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde sorgfältig abgesaugt. Insgesamt wiederholte sich dieser Waschvorgang noch 2 mal. Aus den auf diese Weise gewaschenen Erythrozyten wurde erneut der Fast Hb bestimmt und mit den dazugehörigen Werten der unbehandelten Vollblutproben verglichen

3.4.6. Vergleich der Isolab^{R} - Mikrosäulenmethode mit der Bio Rad^{R} - Mikrosäulenmethode

Es wurden 13 diabetische Blutproben und eine nichtdiabetische Blutprobe in jeweils 3 Versuchsreihen aufgeteilt (Versuchsreihen I - III). Aus den Proben der Versuchsreihe I wurde der Fast Hb mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem bestimmt. Ebenso wurde mit den Proben der Versuchsreihe II verfahren. Hier wurde allerdings die alternative Methode von Isolab^{R} (Methode 2) angewandt. Die Proben der Versuchsreihe III wurden mit Hilfe des Bio Rad^{R} - Mikrosäulenverfahrens gemessen.

Jede Blutprobe wurde demzufolge mit 3 verschiedenen Methoden untersucht. Die Einzelergebnisse wurden miteinander verglichen.

3.5. Untersuchungen an übergewichtigen Patienten

3.5.1. Oraler Glukosetoleranztest und Fast Hb

3.5.1.1. Patientengut

Es wurden 153 übergewichtige weibliche und männliche Patienten aus der Ernährungsambulanz der Medizinischen Klinik E der Universität Düsseldorf untersucht. Das Alter der Patienten reichte von 13 bis 61 Jahren. Bei allen Patienten wurde das Normalgewicht (NG) nach der modifizierten Broca - Formel (63) in Kilogramm errechnet

$$NG\ (\text{weiblich}) = \text{Körperlänge (KL)} - 100 - \frac{KL - 100}{10}$$

$$NG\ (\text{männlich}) = \text{Körperlänge (KL)} - 100$$

Aus dem Broca - Normalgewicht (NG) und dem tatsächlichen Körpergewicht (KG) wurde der Broca - Index (BI) nach der Formel

$$BI = \frac{KG}{NG}$$

errechnet. Der Broca - Index diente zur quantifizierung des Übergewichts. Er reichte bei den

untersuchten Patienten von 1,19 bis 2,42.

3.5.1.2. Versuchsanordnung

Bei 143 der 153 Patienten konnte eine orale Glukosebelastung mit 100 g Glukose durchgeführt werden. Bei den übrigen 10 Patienten konnte eine korrekte Glukosebelastung wegen unkooperativen Verhaltens nicht durchgeführt werden. Es wurden jeweils die Ergebnisse des oralen Glukosetole= ranztests mit den Ergebnissen der Fast Hb Bestimmung verglichen.

Entsprechend ihrem 2-h Blutzuckerwert nach der Glukosebelastung wurden die Patienten 3 Gruppen zugeordnet. Die erste Gruppe umfaßte alle Patienten mit einem 2-h Blutzuckerwert, der kleiner war als 120 mg/dl. In die zweite Gruppe wurden alle Patienten mit einem Blutzuckerwert zwischen 120 und 140 mg/dl aufgenommen. Alle Patienten, die einen Blutzuckerwert von mehr als 140 mg/dl auf= wiesen, bildeten die dritte Gruppe.

Jede der 3 Gruppen wurde daraufhin entsprechend den Ergebnissen der Fast Hb Bestimmung in zwei Untergruppen geteilt. Auf diese Weise wurden in jeder der 3 OGTT - Gruppen die Patienten mit norma= lem bzw. pathologischem Fast Hb getrennt erfaßt.

3.5.1.3. Fettstoffwechselparameter und Fast Hb

Bei allen untersuchten übergewichtigen Patienten wurden die Werte für Gesamtcholesterin im

Serum und Gesamttriglyzeride im Serum zu den Werten für Fast Hb in Beziehung gesetzt.

3.6. Beziehungen zwischen den für Diabetes relevanten Stoffwechselparametern und den glykosylierten Hämoglobinen

3.6.1. Kohlenhydratstoffwechselparameter und Fast Hb bei ambulant behandelten Diabetikern

3.6.1.1. Patientengut

Es wurden die Blutproben von 46 ambulant behandelten weiblichen und männlichen Diabetikern untersucht. Das Alter der Patienten lag zwischen 16 und 86 Jahren. Erkrankungsdauer, Diabetestyp und Art der Therapie waren bei den einzelnen Patienten unterschiedlich.

3.6.1.2. Versuchsanordnung

Bei allen Patienten wurde am gleichen Tag Fast Hb und postprandialer Blutzucker gemessen. Zusätzlich wurde die Glukosekonzentration im 24-h Sammelurin des Vortages bestimmt. Daraufhin wurde die Relation zwischen Fast Hb und den postprandialen Blutzuckerwerten bzw. den Glukosuriewerten untersucht.

3.6.2. Kohlenhydratstoffwechselparameter und Fast Hb bei stationär behandelten Diabetikern

3.6.2.1. Patientengut

Es wurden 102 Patienten untersucht, 22 von ihnen waren juvenile Diabetiker. Das Alter der Patienten reichte von 16 bis 86 Jahren und betrug im Mittel 56 Jahre ± 1,87 (Mean ± SEM). Bei 6 Patienten war die Erkrankung zum Zeitpunkt der Untersuchung frisch entdeckt worden. Bei den übrigen Patienten lag die Erkrankungsdauer zwischen 6 Monaten und 30 Jahren, durchschnittlich 11 Jahre ± o,9 (Mean ± SEM). Nach unterschiedlicher Vortherapie wurden die Patienten stationär mit Insulin behandelt.

3.6.2.2. Versuchsanordnung

Fast Hb wurde mit den Kohlenhydratstoffwechselparametern der vorausgegangenen 2, 7, 14 und 21 Tage in Beziehung gesetzt. Da die Dauer des stationären Aufenthaltes der Patienten unterschiedlich war, änderte sich die Zahl der Teilnehmer mit zunehmender Beobachtungsdauer, nicht aber die Zusammensetzung des Patientengutes hinsichtlich Alter, Diabetestyp oder Erkrankungsdauer.

In 102 Fällen wurde der Fast Hb Wert mit den ermittelten Durchschnittswerten der Kohlenhydratstoffwechselparameter aus den vorangegangenen

2 Tagen, in 66 Fällen mit den Durchschnittswerten der vorangegangenen 7 Tage in Beziehung gesetzt. In 33 Fällen konnte das Fast Hb mit den Durchschnittswerten der Kohlenhydratstoffwechselparameter der vorangegangen 14 Tage und in 18 Fällen mit den Werten der letzten 21 Tage verglichen werden (Abb. 3).

3.6.2.3. Verwendete Kohlenhydratstoffwechselparameter

Es wurden folgende Parameter zur Erfassung des Glukosestoffwechsels zum Fast Hb in Beziehung gesetzt

- Nüchternblutzucker (NBZ)
- postprandialer Blutzucker, 1 Stunde nach den Mahlzeiten gemessen (PPBZ)
- Durchschnittlicher mittlerer Blutzucker (MBZ)
- 24-h Glukosurie (G) .

Der durchschnittliche mittlere Blutzucker setzte sich zusammen aus allen bei einem Patienten während eines Beobachtungszeitraumes gemessenen Blutzuckerwerten. Das Verhältnis von Blutzuckermessungen im Nüchtern- und Postprandialblut betrug im Mittel 1 : 2.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß Lebensalter und Erkrankungsdauer die Nierenschwelle für Glukose heraufsetzen können, wurden die Glukosurie-werte solcher Patienten nicht berücksichtigt, die bei MBZ - Werten von mehr als 200 mg/dl keine Glukose im 24-h Sammelurin aufwiesen. Es wurde davon ausgegangen, daß das Fehlen von Glukose im Urin in diesen Fällen keinen Rückschluß auf die Stoffwechsellage zuließ.

Kohlenhydratstoffwechsel und Fast Hb bei stationär behandelten Diabetikern

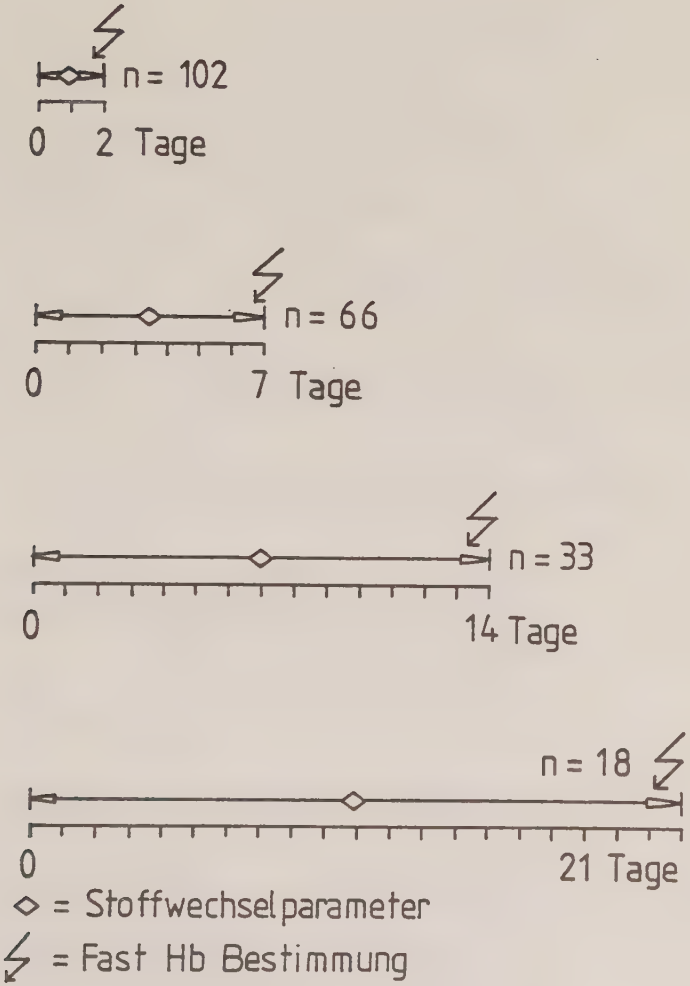

Abb. 3 Versuchsaufbau, Zeitplan und Anzahl der Bestimmunger

3.6.3. Andere Stoffwechselparameter und ihre Beziehung zu Fast Hb

3.6.3.1. Patientengut

Es wurden diabetische Patienten untersucht, die nach unterschiedlicher Vortherapie ambulant bzw. stationär mit Insulin behandelt wurden. Alter und Geschlecht, sowie Diabetestyp und Erkrankungs=dauer der Patienten waren unterschiedlich.

3.6.3.2. Versuchsanordnung

Fast Hb wurde mit am gleichen Tag gemessenen Fettstoffwechselparametern in Beziehung gesetzt.

3.6.3.3. Verwendete Fettstoffwechselparameter

Folgende Fettstoffwechselparameter wurden mit dem Fast Hb Wert in Beziehung gesetzt

- Gesamttriglyzeride im Serum
- Gesamtcholesterin im Serum
- HDL - Cholesterin im Serum

3.6.4. Verlaufskontrollen mit Hilfe des Fast Hb

3.6.4.1. Patientengut

Es wurden 5 stationär behandelte diabetische Patientinnen untersucht. Eine Patientin, im

Alter von 24 Jahren, war seit 5 Jahren juvenile Diabetikerin. Die anderen Patientinnen waren zwischen 62 und 74 Jahre alt und seit 10 bis 20 Jahren erkrankt. Der Grund für die stationäre Aufnahme war in allen Fällen eine akute Verschlechterung bzw. Entgleisung des Glukosestoffwechsels.

3.6.4.2. Versuchsanordnung und verwendete Labordaten

Die Patientinnen wurden 13 bis 15 Tage stationär behandelt. Das Fast Hb wurde am 1.Tag, zwischen dem 7. und 8. Tag und am letzten Tag des Klinikaufenthaltes gemessen. Täglich wurden die Glukosekonzentration im 24-h Urin, der Nüchternblutzucker, der postprandiale Blutzucker und der mittlere Blutzucker aus Nüchtern- und Postprandialwerten ermittelt. Das Verhältnis von Nüchternblutzuckermessungen zu Postprandialblutzuckermessungen betrug 1 : 2 .

3.7. Glykosylierung von Hämoglobin in vitro

3.7.1. Vorversuch

Im Rahmen eines Vorversuchs wurden die Blutproben eines 42 jährigen männlichen diabetischen Patienten untersucht. Es wurden einmalig 50 ml Venenblut entnommen. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme betrug die Blutzuckerkonzentration

132 mg/dl. Das entnommene Blut wurde in Einzelportionen zu je 1 ml aufgeteilt. Eine Hälfte der Proben wurde mit 0,9 % iger NaCl - Lösung in der bereits geschilderten Weise gewaschen, während die andere Hälfte der Proben unverändert belassen wurde.

Alle Proben wurden in dicht verschlossenen Röhrchen im 37° C warmen Wasserbad unter ständiger Bewegung aufbewahrt. Das Fast Hb wurde aus dem Vollblut zu Beginn des Versuchs bestimmt. Weitere Bestimmungen aus dem Vollblut erfolgten nach 9 bzw. 24 Stunden. Aus den gewaschenen Erythrozyten wurde das Fast Hb ebenfalls zu Beginn gemessen. In dieser Probenreihe fanden die folgenden Fast Hb Bestimmungen 3, 6, 9 und 24 Stunden später statt.

3.7.2. Patientengut

Für die Versuche, Hämoglobin in vitro zu glykosylieren wurden Blutproben eines 28 jährigen nichtdiabetischen Probanden, einer 58 jährigen, sowie einer 62 jährigen diabetischen Patientin mit normalen Blutfettwerten entnommen. Außerdem wurden Blutproben eines 51 jährigen Diabetikers mit Hyperlipämie entnommen.

3.7.3. Versuchsanordnung

Von den Blutproben je eines Patienten bzw. des Probanden wurden 3 Versuchsreihen angesetzt. Die

Proben jeder Reihe wurden 2-fach untersucht.

100 bis 120 ml venös entnommenes Blut wurde mit K^+ -EDTA antikoaguliert und in Portionen zu je 1 ml aufgeteilt. Die zu inkubierenden Blutproben wurden durch Hinzufügen von 20 µl einer 50 % igen sterilen D - Glukoselösung auf eine Glukosekonzentration von ca. 1000 mg/dl eingestellt und über 18 Stunden untersucht. Aus einem Teil der mit Glukose inkubierten Blutproben wurde nach 12 Stunden die Glukose durch Waschen der Erythrozyten mit 0,9 % iger NaCl - Lösung vollständig entfernt und die Untersuchung bis zur 18. Stunde fortgesetzt.

Alle Blutproben wurden in einem 37° C warmen Wasserbad in dicht verschlossenen Röhrchen bei ständiger Schüttelbewegung aufbewahrt. Um die Einflüsse von Inkubation, Temperatur und Auswaschen zu erkennen, wurden unter den gleichen Bedingungen Kontrollblutproben über die gesamte Versuchsdauer mitgeführt. Ein Teil der Kontrollblutproben wurde schon zu Beginn des Versuchs gewaschen und bis zur 12. Stunde untersucht. Die Untersuchung der Proben, d.h. die Bestimmung des Fast Hb, erfolgte in den inkubierten Blutproben, in den Kontrollblutproben und in den zu Beginn ausgewaschenen Blutproben in einem 3 stündigen Abstand.

Aus den nach der 12. Versuchsstunde gewaschenen inkubierten Proben und Kontrollblutproben wurde der Fast Hb stündlich bestimmt. Die Glukosekonzentration der Proben wurde zu Beginn und in jeweils 6 stündigem Abstand bestimmt (Abb. 4).

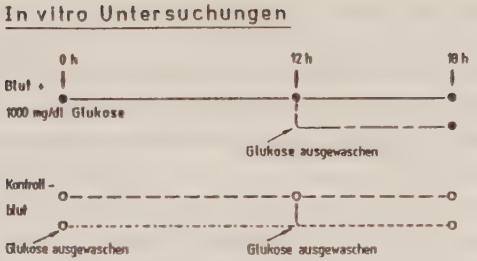

Abb. 4 Schema der in vitro Untersuchungen

3.7.4. Beeinflussung des Fast Hb durch den oralen Glukosetoleranztest

3.7.4.1. Patientengut

Es wurden 23 weibliche und männliche Patienten der Ernährungsambulanz der Medizinischen Klinik E der Universität Düsseldorf untersucht. Die Patien= ten waren im Alter von 16 bis 66 Jahren und wie= sen einen Broca - Index von 1,20 bis 2,57 auf.

3.7.4.2. Versuchsanordnung

Bei den Patienten wurde aus dem venös entnomme= nen Nüchternblut das Fast Hb bestimmt. Anschlie= ßend wurde bei den Patienten eine orale Belastung

mit 100 g Glukose durchgeführt. 2 Stunden später wurden Blutzucker und erneut Fast Hb bestimmt. Die beiden Fast Hb Werte der einzelnen Patienten wurden mit einander verglichen. Entsprechend dem Ausfall des OGTT wurden die Patienten in 3 Gruppen aufgeteilt. In die 1. Gruppe wurden alle Patienten mit 2-h OGTT Werten aufgenommen, die kleiner oder gleich 120 mg/dl waren. Zur 2. Gruppe gehörten alle Patienten mit 2-h OGTT Werten von 121 mg/dl bis 200 mg/dl. In der 3. Gruppe waren alle Patienten mit 2-h OGTT Werten von mehr als 200 mg/dl zusammengefaßt.

3.8. Statistische Auswertung

Die Berechnung von Mittelwert, Varianz, Standardabweichung, Variationskoeffizient und Standardfehler des Mittelwertes wurden mit Hilfe der nachfolgenden Formeln ausgeführt

Mittelwert : $\bar{M} = \frac{1}{n} \sum_{x=1}^{n} X_i$

Varianz : $S^2 = \sum \frac{(X_i - \bar{X})^2}{n - 1}$

Standardabweichung : $SD = \sqrt{S^2}$

Variationskoeffizient : $VK = 100 \times \frac{SD}{\bar{M}}$ %

Standardfehler des Mittelwertes : $SEM = \frac{SD}{\sqrt{n}}$

Statistische Berechnungen erfolgten nach dem Student´s t - Test für unverbundene und verbundene Stichproben. Folgende Formeln wurden dafür eingesetzt

t - Test für unverbundene Stichproben :

$$t = \sqrt{\frac{n_1 \times n_2}{n_1 + n_2}} \times \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{Sp}$$

$$S_p = \frac{(n_1 - 1)\ S_1^2 + (n_2 - 1)\ S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

t - Test für verbundene Stichproben :

Differenz der Mittelwerte :

$$\bar{d} = \frac{1}{n} \sum d_i$$

empirische Standardabweichung :

$$SD^2 = \frac{1}{n - 1} \sum (d_i - \bar{d})^2$$

$$t = \frac{\bar{d}}{SD} \sqrt{n}$$

Die Signifikanz P für die Prüfgrößendifferenz wurde durch Aufsuchen von t bei vorgeschriebenen Freiheitsgraden in den entsprechenden Tabellen (32,97) abgelesen.

Für die Berechnung der linearen Regressions= funktionen, des Bestimmtheitsmaßes und des Korre= lationskoeffizienten wurden die folgenden Formeln angewendet

lineare Regressionsfunktion $Y = a + b X$

$$b = \frac{\sum X_i Y_i - \frac{\sum X_i \times \sum Y_i}{n}}{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}}$$

$$a = \frac{\sum Y_i - b}{n} \times \frac{\sum X_i}{n}$$

Bestimmtheitsmaß :

$$r^2 = \frac{\left[\sum X_i Y_i - \frac{\sum X_i \quad \sum Y_i}{n}\right]}{\left[\sum Y_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}\right]\left[\sum Y_i^2 - \frac{(\sum Y_i)^2}{n}\right]}$$

Korrelationskoeffizient :

$$r = \sqrt{r^2}$$

3.9. Verzeichnis der benutzten Abkürzungen

Körpermaße :

NG	=	Normalgewicht	(kg)
KG	=	Körpergewicht	(kg)
KL	=	Körperlänge	(cm)
BI	=	Broca - Index	

Laborparameter :

OGTT	=	oraler Glukosetoleranztest	(mg/dl)
NBZ	=	Nüchternblutzucker	(mg/dl)

PPBZ	=	postprandialer Blutzucker	(mg/dl)
MBZ	=	mittlerer Blutzucker	(mg/dl)
G	=	Glukosurie	(g/die)
Chol	=	Gesamtcholesterin im Serum	(mmol/L)
Trig	=	Gesamttriglyzeride im Serum	(mmol/L)
HDL	=	High Density Lipoproteins	(mg/dl)
Fast Hb	=	Fast Hemoglobins	(%)

Statistische Auswertungen :

$\bar{M}$	=	Mittelwert	
S^2	=	Varianz	
SD	=	Standardabweichung	
SEM	=	Standardfehler des Mittelwertes	
VK	=	Variationskoeffizient	(%)
r	=	Korrelationskoeffizient	
p	=	Signifikanzniveau	
n	=	Anzahl der Bestimmungen	

In vitro Untersuchungen :

K	=	Kontrollblut
K - A	=	Kontrollblut, zu Beginn gewaschen
K - B	=	Kontrollblut, nach 12 Stunden gewaschen

4. Ergebnisse

4.1. Untersuchungen des Isolab^{R} - Mikrosäulentest= systems im Hinblick auf klinisch - chemische Laborkriterien

4.1.1. Verwendung eines Antikoagulanz

Die Fast Hb Werte aus antikoagulierten und nicht antikoagulierten Blutproben wurden als Mittelwerte von jeweils 5 Bestimmungen paarweise gegenüberge= stellt.

Die Höhe des Fast Hb Wertes der einzelnen Proben wurde durch das Hinzufügen des Antikoagulanz nicht signifikant verändert. Die Fast Hb Werte aus den mit K^{+} -EDTA antikoagulierten Blutproben lagen um durchschnittlich 0,04 $\pm$ 0,12 % Fast Hb (Mean $\pm$ SEM) über den Fast Hb Werten der nicht antikoagulierten Blutproben.

Die Streuung der Testergebnisse im Einzelnen wurden als Intra - Assay Variationskoeffizient von jeweils 5 Bestimmungen der Blutproben ausgedrückt. Der Ver= gleich der Intra - Assay Variationskoeffizienten der antikoagulierten und der nicht antikoagulier= ten Blutproben ergab keinen signifikanten Unter= schied. Auch der Vergleich der durchschnittlichen Streuung der Testergebnisse in den antikoagulier= ten und in den nicht antikoagulierten Reihen zeigte, daß K^{+} -EDTA keinen störenden Effekt bewirkt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 aufgeführt.

PROBE	N	VOLLBLUT			VOLLBLUT (K^+-EDTA)		
		FAST HB	VK	SEM	FAST HB	VK	SEM
1	5	7,7	4,3	0,15	8,2	1,4	0,04
2	5	8,5	2,9	0,10	8,3	2,2	0,09
3	5	7,8	2,7	0,09	7,5	1,4	0,04
4	5	8,3	2,6	0,09	8,1	1,7	0,04
5	5	9,8	3,7	0,23	9,8	1,8	0,12
6	5	7,4	0,0	0,00	8,1	2,2	0,12
7	5	7,1	3,3	0,12	6,8	4,5	0,17
8	5	9,5	2,0	0,12	9,7	0,0	0,00
9	5	8,5	8,5	0,06	8,5	0,0	0,00
$\bar{M}$		8,3	2,5	0,11	8,3	1,7	0,07

Tab. 2 Einfluß von K^+-EDTA auf den FastHb Wert und die Streuung der Testergebnisse

4.1.2. Statistische Qualitätskontrolle

4.1.2.1. Intra - Assay Variationskoeffizient

Aus 5 verschiedenen Blutproben wurde der Fast Hb Wert je 5 mal bestimmt. Dabei ergab sich ein Intra - Assay Variationskoeffizient von VK = 3,8 $\pm$ 0,1 (Mean $\pm$ SEM). Die Ergebnisse hierzu sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt.

4.1.2.2. Inter - Assay Variationskoeffizient

Die Untersuchung des von Isolab^R hergestellten Fast Hb Standards ergab über 4 Untersuchungstage

eine Streubreite mit einem Inter - Assay Variationskoeffizienten von VK = ± 1,1%. Der am 5. Versuchstag ermittelte Standard Fast Hb Wert streute mit einem Variationskoeffizienten von VK = 6,4 %. Damit wurde die vom Hersteller für die Präzisionskontrolle vorgegeschriebene Grenze von VK = ± 6 % überschritten.

Aus der Tabelle 4 geht hervor, daß die Variationskoeffizienten der Versuchsreihen 1 und 2 nach unterschiedlicher Versuchsdauer den Wert ± 6 % überschreiten. Die Blutproben der Versuchsreihe 1 konnten demnach bei + 2 °c über einen Zeitraum von 4 Tagen gelagert werden. Tiefgefrieren auf - 18 ° ermöglichte es, die Proben der Reihe 2 über 7 Tage zu lagern, ohne daß sich der Fast Hb Wert entscheidend änderte.

PROBE	FAST HB		SD	SEM	VK
	$\bar{M}$	RANGE			
1	9,0	8,5 - 9,5	± 0,3	± 0,1	± 3,2
2	5,3	4,9 - 5,7	± 0,3	± 0,1	± 5,3
3	9,2	8,6 - 9,7	± 0,3	± 0,1	± 3,6
4	9,0	8,5 - 9,7	± 0,4	± 0,1	± 4,8
5	7,2	7,0 - 7,3	± 0,2	± 0,1	± 2,1
$\bar{M}$	-	-	± 0,3	± 0,1	± 3,8

Tab. 3 Intra - Assay Variationskoeffizient des Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystems, errechnet mit Hilfe von Mehrfachbestimmungen (n=10)

	VERSUCHSREIHE					
	1		2		3	
VERSUCHSTAG	FAST HB	VK	FAST HB	VK	FAST HB	VK
1	7,6		7,6		-	
2	7,5		7,2		8,4	
3	7,3		7,5		8,5	
4	6,7	± 5,5	7,4		8,3	
5	6,4	± 7,4	7,1		8,3	± 1,1
6			8,1		9,7	± 6,4
7			8,3	± 5,9		
8			8,7	± 7,3		

Tab. 4 Inter - Assay Variationskoeffizient des Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystems

4.1.3. Ausschaltung möglicher Störeinflüsse

Fast Hb Werte, die in gewaschenen Erythrozyten gemessen wurden, differierten nicht signifikant von den Fast Hb Werten, die im ungewaschenen Vollblut bestimmt wurden. Nach dem Waschen der Erythrozyten lag der durchschnittliche Fast Hb Wert aller Proben um 3,5 ± 1,8 % (Mean ± SEM) niedriger als vor dem Waschen. Es ist jedoch eine Betrachtung der Einzelergebnisse notwendig. Die Proben Nr. 1 und 2 waren stark hyperlipämisch. Hier differierten die Fast Hb Werte aus den gewaschenen Erythrozyten gegenüber dem ungewaschenen Vollblut signifikant mit - 11,3 ± 2,5 % (Mean ± SEM). Die Fast Hb Werte der Proben 3 bis 10 werden durch den Waschvorgang dagegen nur um den

Betrag von 1,6 ± 1,5 % (Mean ± SEM) gesenkt. Dieser Unterschied ist nicht signifikant. Die Ergebnisse hierzu sind in Tabelle 5 aufgeführt.

PROBE	VOLLBLUT % FAST HB	ERYTHROZYTEN % FAST HB	DIFFERENZ % FAST HB	DIFFERENZ ABS. %
1	10,22	8,80	- 1,42	- 13,7*
2	13,12	11,96	- 1,26	- 8,8*
3	10,65	10,65	± 0,00	± 0,0
4	15,75	15,26	- 0,49	- 3,1
5	10,50	10,09	- 0,41	- 3,9
6	9,09	8,84	- 0,25	- 2,8
7	8,31	8,14	- 0,17	- 2,0
8	9,81	9,39	- 0,42	- 4,3
9	8,39	9,09	+ 0,70	+ 8,3
10	11,67	11,11	- 0,56	- 4,8

Tab. 5 Ausschaltung von Störeinflüssen durch Waschen der Erythrozyten. * bezeichnet die signifikante Differenz ($p < 0,001$).

4.1.4. Vergleich der Mikrosäulenmethoden

4.1.4.1. Ergebnisse bei Verwendung der Methoden Bio Rad^R und Isolab^R 1

Die Einzelergebnisse der mit beiden Methoden durchgeführten Messungen wurden einander gegenübergestellt. Sie korrelierten dabei mit $r = 0,88$ bei $p < 0,001$. Die Gleichung für die Regressionsfunktion lautet $Y = 0,99\,X + 1,06$, wobei für y die

mit Bio Rad^{R} gemessenen Hb A_1 Werte und für X die mit Isolab^{R} bestimmten Fast Hb Werte einzusetzen sind. Die mit der Bio Rad^{R} Methode gemessenen Werte sind gegenüber den mit Isolab^{R} Methode 1 bestimmten Werten um 10,5 $\pm$ 5,8 % (Mean $\pm$ SEM) erhöht. Bei der paarweisen Gegenüberstellung der einzelnen Werte ergab sich insgesamt ein signifikanter Unterschied (Tab. 6, Abb. 5).

PROBE	BIO RAD^{R} % HB A_1	ISOLAB^{R} 1 % FAST HB	DIFFERENZ ABS. %
1	15,36	12,69	+ 21,0
2	9,25	6,71	+ 37,9
3	15,44	13,14	+ 17,5
4	8,11	7,58	+ 7,0
5	8,56	7,64	+ 12,0
6	7,78	7,48	+ 4,0
7	8,83	6,39	+ 38,2
8	14,06	12,37	+ 13,2
9	17,17	15,37	+ 11,7
10	11,82	10,37	+ 14,0
11	10,70	10,78	- 0,7
12	8,59	9,55	- 10,1
13	9,24	12,76	- 27,6
14	17,76	16,15	+ 10,0

Tab. 6 Vergleich der Methoden Bio Rad^{R} und Isolab^{R}. Der Unterschied zwischen den Hb A_1 Werten und den Fast Werten ist signifikant ($p < 0,05$).

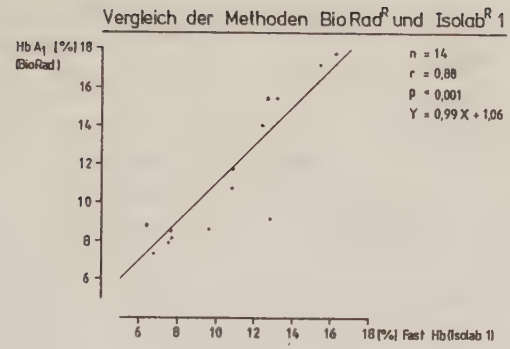

Abb. 5 Vergleich der Methoden Bio Rad^{R} und Isolab^{R} 1

4.1.4.2. Ergebnisse bei Verwendung der Methoden Bio Rad^{R} und Isolab^{R} 2

Auch hier wurden die Einzelergebnisse der mit beiden Methoden durchgeführten Messungen einander gegenübergestellt. Dabei wurde zwischen den Bio Rad^{R} Hb A_1 Werten und den Isolab^{R} Fast Hb Werten eine Korrelation mit $r = 0,84$ bei $p < 0,001$ ermittelt. Die Gleichung für die Regressionsfunktion lautet $Y = 0,7\,X + 2,27$. Für Y sind die mit Bio Rad^{R} gemessenen Werte und für X die mit Isolab^{R} bestimmten Werte einzusetzen. Auch bei diesem Vergleich liegen die mit Bio Rad^{R} ermittelten Hb A_1 Werte im Durchschnitt deutlich über den Fast Hb Werten von Isolab^{R}. Der prozentuale Unterschied beträgt 12,1 $\pm$ 4,8 % (mean $\pm$ SEM). Die Differenz der Ergebnisse ist allerding nicht signifikant (Tab. 7, Abb. 6).

PROBE	BIO RAD® % HB A_1	ISOLAB® 2 % FAST HB	DIFFERENZ ABS. %
1	15,36	12,85	+ 19,5
2	9,25	7,90	+ 17,1
3	15,44	13,56	+ 13,9
4	8,11	7,68	+ 5,6
5	8,56	7,07	+ 21.1
6	7,78	6,77	+ 14,9
7	8,83	7,63	+ 15,7
8	14,06	12,78	+ 12,0
9	17,17	15,67	+ 9,6
10	11,82	10,97	+ 7,8
11	10,70	7,38	+ 45,0
12	8,59	12,86	- 33,2
13	9,24	10,08	- 8,3
14	17,76	13,54	+ 31,2

Tab. 7 Vergleich der Methoden Bio Rad® und Isolab® 2

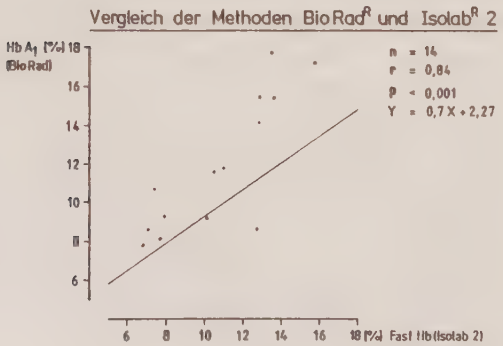

Abb. 6 Korrelation zwischen Bio Rad® und Isolab® 2

4.1.4.3. Ergebnisse bei Verwendung der Methoden Isolab^{R} 1 und Isolab^{R} 2

Die Korrelation zwischen den beiden alternativen Verfahren von Isolab^{R} ist mit r = 0,80 bei $p < 0,001$ signifikant. Die Funktionsgleichung für die Regressionsgerade lautet Y = 0,87 X + 1,56 (Y = Isolab^{R} 2; X = Isolab^{R} 1 . Die Fast Hb Werte der Methode 2 liegen im Durchschnitt um 2,7 $\pm$ 5,0 % (Mean $\pm$ SEM) über den mit Methode 1 gemessenen Werten. Die Überprüfung der Differenz ergibt jedoch keine Signifikanz (Tab. 8, Abb. 7)

PROBE	ISOLAB^{R} 1 % FAST HB	ISOLAB^{R} 2 % FAST HB	DIFFERENZ ABS. %
1	12,69	12,85	- 1,6
2	6,71	7,90	- 15,1
3	13,14	13,56	- 3,1
4	7,58	7,68	- 1,3
5	7,64	7,07	+ 8,1
6	7,48	6,77	+ 10,5
7	6,39	7,63	- 16,3
8	12,37	12,78	- 3,2
9	15,37	15,67	- 1,9
10	10,37	10,97	- 5,5
11	10,78	7,38	+ 46,1
12	9,55	12,86	- 25,7
13	12,76	10,08	+ 26,6
14	16,15	13,54	+ 19,3

Tab. 8 Vergleich der Methoden Isolab^{R} 1 und Isolab^{R} 2

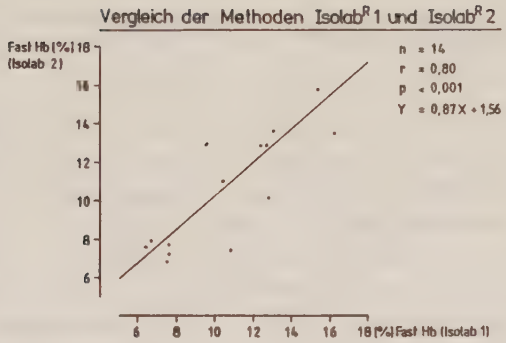

Abb. 7 Korrelation zwischen Isolab^{R} 1 und Isolab^{R} 2

4.2. Diabetes Mellitus Screening bei übergewichtigen Personen

4.2.1 Diagnostik mit Hilfe des oralen GlukosetoleranzTests

Von den 143 übergewichtigen Personen, bei denen eine orale Glukosebelastung durchgeführt werden konnte, zeigten 68 einen normalen Ausfall des Tests mit einem 2-h OGTT Blutzuckerwert bis 120 mg/dl (Tab. 9, Teil 1). 42 Personen wiesen grenzwertig pathologische OGTT - Befunde auf, die zwischen 121 und 140 mg/dl lagen (Tab. 9, Teil 2).Bei 43 Personen wurde ein pathologisch erhöhter 2-h OGTT Blutzuckerwert von mehr als 140 mg/dl nachgewiesen (Tab. 9, Teil 3).

4.2.2. Diagnostik durch Messung des Fast Hb Spiegels

Von den 143 übergewichtigen Personen zeigten 129 einen normalen Fast Hb Wert, der im Durchschnitt 7,2 ± 0,1 % Fast Hb (Mean ± SEM) betrug. Nur bei 14 Personen fand sich ein pathologisch erhöhter Fast Hb Wert von über 8,5 % Fast Hb. Hier betrug der Fast Hb Wert im Durchschnitt 9,0 ± 0,09 % Fast Hb (Mean ± SEM). Die Fast Hb Werte der untersuchten Personen sind zusammen mit den 2-h OGTT Werten in der Tabelle 9 aufgeführt.

4.2.3. Vergleich der Ergebnisse beider Untersuchungen

Von den 68 übergewichtigen Probanden, deren 2-h OGTT Blutzuckerwert bei maximal 120 mg/dl lag, zeigten 62 einen normalen Fast Hb Wert von durchschnittlich 7,3 ± 0,09 % Fast Hb (Mean ± SEM) bei einem normalen 2-h OGTT Wert von 106 ± 1,5 mg/dl. Bei 6 Patienten zeigte sich ein erhöhter Fast Hb Wert von 8,9 ± 0,1 % FastHb (Mean ± SEM) bei einem 2-h OGTT Wert von 91 ± 4,9 mg/dl. Diese 6 Personen unterschieden sich bezüglich Alter, Geschlecht und Ausmaß des Übergewichts nicht von den anderen untersuchten übergewichtigen Personen. Das Gesamtcholesterin im Serum betrug bei ihnen 5,9 ± 0,3 mmol/L (Mean ± SEM), während die Konzentration der Gesamttriglyzeride im Serum durchschnittlich 2,5 ± 0,6 mmol/L (Mean ± SEM) betrug. Auch hierin unterschieden sich demnach die 6 Probanden nicht von den übrigen untersuchten Personen.

42 Probanden wiesen einen grenzwertig erhöhten 2-h OGTT Wert zwischen 121 und 140 mg/dl auf. Dabei hatten 39 von ihnen einen normalen Fast Hb Wert von 7,2 ± 0,1 % Fast Hb (Mean ± SEM) bei einem 2-h OGTT Wert von 129 ± 0,8 mg/dl (Mean ± SEM). Demzufolge lag das Fast Hb in dieser OGTT Gruppe nur bei 3 Probanden über 8,5 % Fast Hb. Der durchschnittliche Wert betrug 9,3 ± 0,1 % Fast Hb (Mean ± SEM) bei einem 2-H OGTT Wert von durchschnittlich 129 ± 1,7 mg/dl (Mean ± SEM).

Von 33 Probanden mit pathologisch erhöhtem 2-h OGTT Wert über 140 mg/dl zeigten 28 normale Fast Hb Werte von 7,4 ± 0,1 % Fast Hb (Mean ± SEM) und 2-h OGTT Werte von 179 ± 8,6 mg/dl (Mean ± SEM). Nur bei 5 Probanden dieser Gruppe wurde gleichzeitig ein erhöhter Fast Hb Wert von 9,1 ± 0,2 % Fast Hb und ein 2-h OGTT Wert von 209 ± 15,0 mg/dl gefunden (Mean ± SEM).

11 Patienten wiesen 2-h OGTT Werte über 200 mg/dl auf. Bei 7 von ihnen war das Fast Hb mit einem Durchschnittswert von 7,3 ± 0,2 % Fast Hb (Mean ± SEM) im Normalbereich bei einem 2-h OGTT Wert von 249 ± 4,7 mg/dl (Mean ± SEM). Nur 4 Patienten mit einem Fast Hb Wert von 9,2 ± 0,2 (Mean ± SEM) waren in dieser OGTT Gruppe zu finden. Ihr durchschnittlicher 2-h OGTT Wert betrug 223 ± 7,0 mg/dl (Mean ± SEM). Alle Einzelergebnisse sowohl des OGTT, als auch der Fast Hb Bestimmung sind in Tabelle 9 + 10 entsprechend der hier angewandten Einteilung des oralen Glukosetoleranztestes aufgeführt.

Tab. 9
Fast Hb und OGTT bei 143 übergewichtigen Patienten

Teil 1, 2-h OGTT bis einschließlich 120 mg/dl

NAME	FAST HB	2-H OGTT	CHOL	TRIG
A.A.	8,0	120	6,99	1,95
B.B.	6,0	85	5,31	1,74
B.G.	7,2	107	6,73	1,21
B.D.	7,9	100	4,40	0,95
D.H.	6,4	102	2,26	1,07
D.L.	8,8	85	5,57	4,09
E.M.	8,8	87	6,35	2,29
G.A.	6,4	113	5,18	1,95
H.R.	8,0	98	6,22	1,20
H.R.	8,4	90	4,92	1,89
H.I.	6,1	111	4,66	1,21
H.L.	6,3	92	7,38	0,55
H.H.	7,2	100	5,57	0,80
H.M.	6,2	105	6,35	0,98
J.D.	7,3	112	4,66	1,99
J.R.	6,5	88	4,12	0,69
J.E.	6,7	118	5,31	1,01
J.G.	8,0	115	4,14	0,79
J.F.	7,9	73	6,48	2,99
J.K.	7,5	98	4,79	2,06
K.H.	7,5	110	5,70	0,37
K.R.	7,1	115	6,60	2,18
K.E.	8,5	107	6,73	1,95
K.H.	6,1	115	5,18	1,70
K.A.	6,6	95	5,70	1,60
K.R.	7,3	120	2,98	0,94
K.J.	5,8	88	4,27	0,73

NAME	FASTHB	2-H OGTT	CHOL	TRIG
K.M.	7,0	120	5,57	1,62
K.E.	7,5	120	5,83	0,60
K.M.	6,3	110	4,27	0,92
L.C.	7,4	117	4,53	1,10
L.T.	8,3	98	8,81	1,86
L.A.	8,2	110	4,66	1,03
M.A.	7,6	110	6,22	1,34
M.M.	7,0	100	4,92	0,97
M.M.	6,4	99	5,44	1,62
M.M.	8,0	120	6,48	1,62
M.B.	6,5	70	5,96	1,60
N.D.	9,3	90	6,73	0,94
N.M.	8,6	105	6,22	1,13
O.U.	7,2	120	5,57	2,49
P.E.	7,3	85	5,44	1,07
P.M.	7,6	107	5,31	0,60
P.C.	7,5	117	6,09	1,71
P.M.	7.1	98	5,83	2,21
P.M.	7,4	105	5,31	1,88
R.J.	7,4	107	4,66	1,56
R,J.	6,3	110	5,31	1,59
R.E.	6,4	100	5,43	1,70
R.B.	7,4	105	4,53	0,64
S.S.	7,3	102	4,92	1,65
S.P	7,9	117	4,66	1,62
S.C.	8,9	105	5,18	2,12
S.M.	7,5	112	4,79	0,66
S.H.	8,8	75	5,18	4,37
S.H.	7,7	104	6.22	1,18
S.B.	7,3	108	7,12	1,27

NAME	FAST HB	2-H OGTT	CHOL	TRIG
S.M.	7,9	112	4,79	1,88
T.M.	8,0	120	6,22	0,98
T.E.	7,9	120	5,31	1,20
V.H.	8,0	107	8,03	2,49
W.C.	7,0	98	4,53	0,96
W.R.	7,4	110	5,18	0,82
W.W.	8,4	107	4,66	1,47
W.A.	8,1	120	5,44	1,63
Y.T.	7,6	120	5,31	3,89
Z.G.	8,2	102	5,57	1,27
H.M.	7,4	90	8,03	1,57
$\bar{M}$ (n=68)	7,4	104	5,51	1,53
SEM	$\pm$0,03	$\pm$1,5	$\pm$0,13	$\pm$0,10

Teil 2, 2-h OGTT von 121 bis 140 mg/dl

NAME	FAST HB	2-H OGTT	CHOL	TRIG
B.H.	9,3	127	5,18	0,93
B.L.	8,2	127	6,48	2,57
B.G.	7,6	127	4,92	0,99
B.M.	5,8	132	5,44	1,13
D.D.	6,9	123	4,14	1,62
D.J.	7,6	125	4,79	1,71
E.J.	7,8	130	7,12	3,50
F.E.	7,4	130	6,22	1,08
G.M.	8,3	135	7,51	2,57
G.K.	5,8	130	5,57	1,68
G.A.	6,5	125	6,60	1,01
G.A.	7,7	123	5,70	1,91

NAME	FAST HB	2-H OGTT	CHOL	TRIG
G.M.	7,7	130	5,44	1,14
H.L.	7,9	130	5,83	1,07
H.D.	7,2	130	6,09	1,01
J.R.	6,9	122	6,48	4,20
K.K.	5,7	132	7,25	2,57
K.U.	6,4	137	6,48	2,38
K.E.	6,0	140	4,66	0,82
K.L.	9,0	127	5,05	4,41
K.E.	9,5	132	4,40	1,18
K.K	7,5	125	4,92	1,40
K.R.	7,3	123	6,99	2,99
K.U.	7,9	125	6,35	1,88
K.H.	8,2	130	6,86	3,01
K.R.	7,9	135	6,60	3,42
L.M.	8,1	124	5,83	1,18
M.J.	7,4	122	4,79	0,57
M.R.	7,4	140	6,09	2,21
S.H.	7,6	125	6,71	1,30
S.C.	7,5	125	5,44	0,90
S.R.	5,9	140	4,40	0,87
S.H.	6,4	135	5,31	3,40
S.W.	7,1	122	3,89	1,13
S.E.	7,5	135	7,51	1,62
S.B.	8,3	132	4,40	3,62
V.E.	6,5	130	6,48	2,49
W.W.	7,0	125	4,66	1,99
W.D.	6,5	125	6,22	2,32
W.T.	5,8	122	6,86	1,91
Z.O.	8,5	130	5,31	1,59
R.M.	8,0	130	4,79	1,53
$\bar{M}$ (n=42)	7,4	129	5,76	1,92
SEM	$\pm$0,05	$\pm$0,8	$\pm$0,15	$\pm$0,15

Teil 3, 2-h OGTT ab 141 mg/dl

NAME	FAST HB	2-H OGTT	CHOL	TRIG
B.A.	7,2	260	6,60	3,83
B.G.	9,5	207	6,35	4,89
B.K.	7,4	182	7,38	0,92
B.G.	6,5	150	9,71	6,51
D.H.	5,9	150	3,11	1,79
D.E.	6,4	288	6,48	2,08
E.E.	7,5	155	5,05	2,83
G.E.	7,5	152	5,57	1,79
G.A.	6,8	160	5,57	1,79
H.W.	7,9	215	7,90	5,20
H.H.	7,0	142	6,09	0,66
H.T.	7,3	298	4,66	1,97
H.L	7,5	148	5,70	1,02
J.B.	9,1	217	6,86	13,05
K.H.	7,5	226	5,96	2,66
K.C.	8,6	153	4,92	1,86
K.C.	7,5	150	6,60	2,21
K.L.	6,7	145	6,73	1,88
K.R.	7,9	152	5,31	1,70
P.K.	8,5	165	5,70	3,60
R.G.	8,3	155	6,73	3,94
S.E.	8,1	154	6,48	1,20
S.U.	7,5	195	5,57	1,38
S.R.	8,7	228	5,96	1,79
S.A.	7,3	148	5,83	1,16
S.E.	8,2	222	6,22	2,05
U.A.	6,8	147	6,48	0,90
W.G.	8,4	150	5,05	2,10
W.E.	8,0	148	5,96	1,44
W.B.	7,7	172	6,09	1,65

NAME	FAST HB	2-H OGTT	CHOL	TRIG
W.J.	6,9	234	6,73	10,12
W.I.	9,6	240	5,05	0,75
Z.U.	7,3	157	5,83	1,34
$\bar{M}$ (N=33)	7,7	184	6,07	2,79
SEM	±0,06	±6,9	±0,19	±0,46

Teil 4, übergewichtige Patienten, bei denen kein OGTT durchgegührt wurde

NAME	FAST HB	2-H OGTT	CHOL	TRIG
D.E.	6,4	-	5,96	1,71
F.H.	6,4	-	6,60	4,02
F.R.	7,0	-	4,27	1,44
G.M.	6,4	-	5,57	0,89
G.H.	7,4	-	6,99	2,38
H.E.	7,8	-	6,22	2,08
H.R.	7,3	-	5,70	1,27
K.I.	8,5	-	6,22	4,45
P.M.	8,4	-	6,73	4,07
S.T.	10,5	-	5,57	0,95
$\bar{M}$ (n=10)	7,6	-	5,98	2,33
SEM	±0,4	-	±0,24	±0,43

OGTT GRUPPE	N	N	2-H OGTT MG/DL (MEAN ± SEM)	FAST HB BIS 8,5%	FAST HB AB 8,6%
normal	68	62	106 ± 1,5	7,3 ± 0,1	
≤120 mg/dl		6	91 ± 4,8		8,9 ± 0,1
subklin.	42	39	129 ± 0,8	7,2 ± 0,1	
121-140mg/dl		3	129 ± 1,7		9,3 ± 0,1
pathol.	33	28	179 ± 8,6	7,4 ± 0,1	
≥141 mg/dl		5	209 ±15,0		9,1 ± 0,2
pathol.	11	7	249 ± 4,7	7,3 ± 0,2	
≥200 mg/dl		4	223 ± 7,0		9,2 ± 0,2

Tab. 10 Vergleichende Darstellung von 2-h OGTT Wert und Fast Hb Wert bei 143 Patienten

4.2.4. Beziehung zwischen Fast Hb und 2-h OGTT

Bei allen 143 übergewichtigen Patienten wurde nach einer Beziehung zwischen Fast Hb und dem 2 Stunden Wert des oralen Glukosetoleranztests gesucht. Die Untergliederung in die OGTT Gruppen förderte bei der Gegenüberstellung mit den dazugehörigen Fast Hb Werten ebensowenig eine Korrelation zu Tage, wie die Gegenüberstellung von 2-h OGTT und Fast Hb ohne Untergliederung in OGTT Gruppen.

Die Verteilung von Fast Hb Werten und 2-h OGTT Werten bei den 143 Probanden ist aus der Ab= bildung 8 ersichtlich.

Beziehung zwischen Fast Hb und OGTT

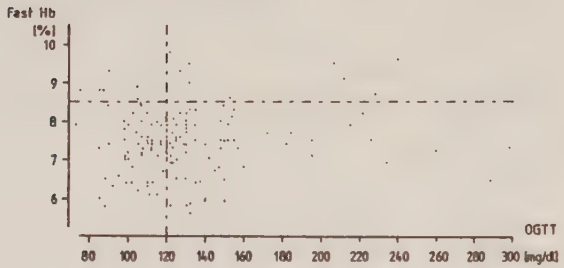

Abb. 8 Verteilung von 2-h OGTT und Fast Hb bei 143 übergewichtigen Patienten

4.2.5. Fettstoffwechselparameter und Fast Hb

Bei 143 übergewichtigen Patienten, die am oralen Glukosetoleranztest teilnahmen und bei weiteren 10 übergewichtigen Patienten, bei denen die Durchführung der oralen Glukosebelastung nicht möglich war, wurden die Beziehungen von Fast Hb zu Serumcholesterin und Serumtriglyzeriden untersucht.

Zwischen Fast Hb und den Serumtriglyzeriden wurde bei 153 Patienten eine signifikante Korrelation mit $r = 0{,}17$ bei $p < 0{,}05$ gefunden. Dagegen konnte keine derartige Beziehung zwischen Serumcholesterin und Fast Hb gefunden werden. Die Laborwerte hierzu sind in Tabelle 9 aufgeführt. Die Verteilung der Werte für Fast Hb und Serumtriglyzeride sind in Abbildung 9 zu ersehen.

Beziehung zwischen Fast Hb und Serumtriglyzeriden

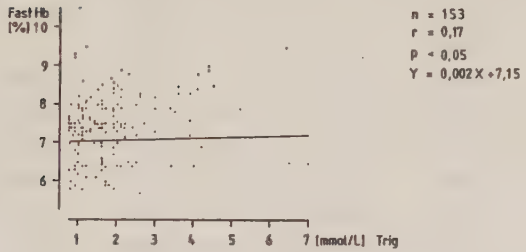

Abb. 9 Verteilung von Fast Hb und Serumtriglyzeriden bei 153 übergewichtigen Patienten

4.3. Abhängigkeit des Fast Hb Spiegels von der Stoffwechsellage diabetischer Patienten

4.3.1. Kohlenhydratstoffwechsel und Fast Hb bei ambulant behandelten Diabetikern

Die Untersuchung von 46 ambulant behandelten Diabetikern ergab eine signifikante Beziehung zwischen den am gleichen Tag gemessenen Kurzzeitparametern des Glukosestoffwechsels und Fast Hb. Postprandialer Blutzucker, im Durchschnitt 179,6 $\pm$ 11,4 mg/dl (Mean $\pm$ SEM) und Fast Hb, 10,4 $\pm$ 0,33 %Fast Hb (Mean $\pm$ SEM), korrelierten mit $r = 0,70$ bei $p < 0,001$ Zwischen den Werten für Fast Hb und der 24-h Glukosurie des Vortages, 5,6 g/d $\pm$ 2,6 (Mean $\pm$ SEM) fand

NAME	FAST HB	PPBZ	G	CHOL	TRIG
P.G	7,02	110	0,0	6,46	0,92
S.K.	8,26	164	0,0	4,78	1,90
W.A.	8,40	82	0,0	5,30	0,60
G.H.	9,40	158	0,0	6,07	1,20
H.W.	13,51	270	52,5	7,11	5,15
P.H.	10,91	212	0,0	5,68	1,52
M.K.	11,99	230	3,5	6,98	3,24
D.K.	9,91	140	0,0	4,52	0,83
P.C.	10,87	260	18,9	3,87	1,75
K.K.	10,59	230	0,2	6,72	4,54
J.A.	8,65	265	6,0	8,40	4,89
S.E.	12,57	345	11,9	9,05	8,25
S.H.	9,74	228	1,8	6,20	2,82
H.K.	10,67	142	0,0	5,81	1,78
W.J.	10,28	198	0,0	3,79	0,86
S.F.	8,90	203	0,0	2,58	2,12
S.K.	9,35	191	0,0	5,30	3,77
P.E.	10,90	215	1,3	5,68	4,02
S.M.	11,83	145	0,0	6,20	2,99
B.G.	10,81	227	3,9	9,56	9,13
F.H.	7,96	142	0,0	6,20	2,32
L.A.	10,99	145	0,0	7,62	6,65
P.C.	9,98	173	10,5	6,07	3,02
E.H.	6,72	61	0,0	6,72	3,87
H.J.	17,08	353	101,5	4,26	2,38
B.K.	11,84	254	5,4	5,04	2,48
S.A.	12,43	310	6,3	3,10	0,90
R.N.	7,96	95	0,0	-	-
G.D.	11,72	270	3,6	5,94	5,70
E.B.	7,16	77	0,0	4,65	1,02
S.S.	12,65	240	8,5	3,90	1,34

Tab. 11, Teil 1

NAME	FAST HB	PPBZ	G	CHOL	TRIG
G.A.	7,78	99	0,0	5,04	1,08
R.O.	9,96	69	0,0	6,96	1,72
W.H.	7,80	78	0,0	10,63	2,60
S.E.	12,14	151	0,5	4,94	2,75
G.H.	11,71	115	6,7	5,20	0,66
S.H.	9,84	82	0,0	5,98	1,05
S.K.	9,05	53	0,0	6,16	1,01
B.H.	8,65	132	0,0	5,27	1,75
W.E.	10,63	261	5,9	5,90	2,64
G.H.	13,87	232	7,7	6,03	1,08
F.H.	9,81	180	0,0	7,28	0,72
D.M.	8,43	150	0,0	5,22	0,66
K.F.	16,23	265	2,3	9,70	7,48
B.F.	13,64	162	0,0	14,27	28,27
W.K.	8,43	99	0,0	6,11	1,90
$\bar{M}$	10,40	179,6	5,6	6,18	3,27
SEM	$\pm$ 0,33	$\pm$ 11,4	$\pm$ 2,6	$\pm$ 0,31	$\pm$ 0,64

Tab. 11, Teil 2 Kohlenhydrat- und Fettstoff= wechselparameter, sowie Fast Hb bei 46 ambulant behandelten Diabetikern

sich ein Korrelationskoeffizient von r = 0,57 bei $p < 0,001$.

Die Funktionsgleichung für die Regressionsgerade zwischen Fast Hb und PPBZ lautet $Y = 0,02\,X + 6,73$. Die entsprechende Gleichung für die Regressions= gerade zwischen Fast Hb und der 24-h Glukosurie des Vortages lautet $Y = 0,08\,X + 9,96$. Die Stoff= wechseldaten dieser Untersuchung sind aus Tabelle 11, die Verteilung der Werte aus Abbildung 10 zu ersehen.

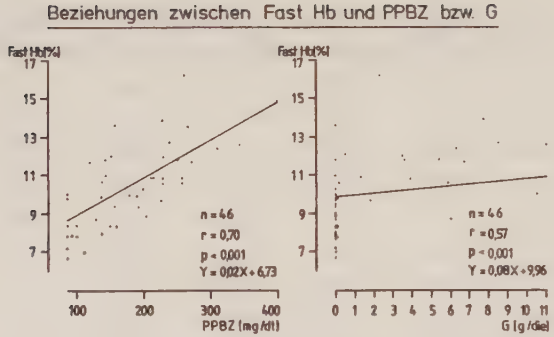

Abb. 10 Korrelation zwischen Kohlenhydratstoff= wechsel und Fast Hb bei 46 ambulant be= handelten Diabetikern

4.3.2. Kohlenhydratstoffwechsel und Fast Hb bei stationär behandelten Diabetikern

4.3.2.1. Beobachtung über 2 Tage

Bei der Gegenüberstellung von Fast Hb und den über 2 Tage gemittelten Werten für Nüchternblut= zucker (NBZ), postprandialen Blutzucker (PPBZ), mittleren Blutzucker (MBZ) und 24-h Glukosurie ergaben sich signifikante Beziehungen.

Fast Hb und NBZ korrelierten bei 101 Patienten mit $r = 0,33$ bei $p < 0,001$. Fast Hb und PPBZ korre= lierten bei 98 Patienten mit $r = 0,36$ bei $p < 0,001$. Zwischen Fast Hb und MBZ fand sich eine signifi= kante Korrelation mit $r = 0,42$ bei $p < 0,001$.

Zwischen Fast Hb und 24-h Glukosurie des Vortages wurde bei 88 Patienten eine Beziehung mit r = o,44 bei p<0,001 ermittelt (Tab 12, Abb. 11 + 12).

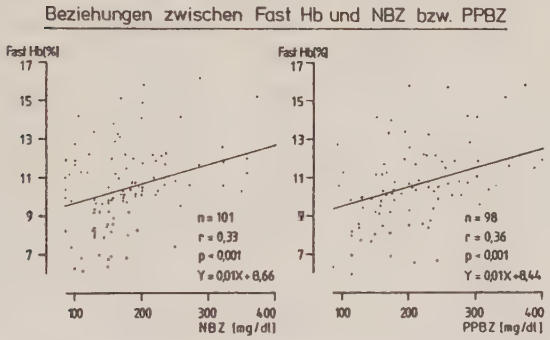

Abb. 11 Korrelation zwischen Fast Hb und NBZ bzw. PPBZ bei Beobachtung über 2 Tage

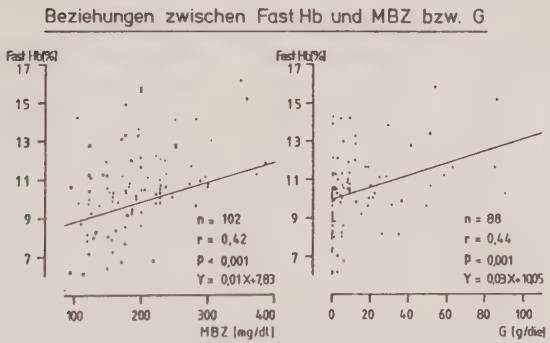

Abb. 12 Korrelation zwischen Fast Hb und MBZ bzw. G bei Beobachtung über 2 Tage

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G	CHOL	TRIG	HDL
A.G.	7,39	96	-	96	-	10,63	2,60	-
B.P.	10,59	195	198	197	20,0	5,90	2,64	39
B.L.	8,20	144	172	154	0,0	4,78	1,90	-
B.H.	8,64	149	224	202	6,8	5,43	2,56	35
B.R.	9,88	166	123	140	35,9	8,53	3,51	23
B.O.	11,29	55	61	59	2,0	7,75	1,74	27
B.H.	9,19	131	146	139	0,0	-	-	20
B.K.	9,54	134	157	147	-	4,00	1,24	26
B.I.	12,89	159	289	224	16,1	7,62	6,52	-
B.M.	11,67	100	251	214	19,0	4,60	1,30	46
B.E.	10,00	178	201	189	19,4	6,59	2,33	66
D,K.	10,68	178	170	173	0,0	4,26	1,44	34
D.M.	10,75	249	288	272	7,6	-	-	33
E.M.	10,52	238	231	233	5,6	6,98	6,44	-
E.G.	9,22	153	179	170	14,6	5,94	1,87	-
E.H.	6,78	175	236	221	0,0	8,66	2,80	31
E.M.	11,19	164	172	170	0,0	5,55	1,47	27
E.L.	14,90	199	150	172	0,0	-	-	-
F.G.	6,42	144	213	153	1,7	3,87	2,94	41
G.E.	8,63	151	240	204	0,0	6,20	3,68	-
G.P.	12,60	322	206	245	62,7	6,07	1,52	-
G.H.	14,19	194	267	249	4,4	5,55	2,04	-
G.E.	9,25	173	198	186	9,2	5,94	1,97	-
H.J.	8,16	129	117	121	8,2	4,78	1,90	53
H.O.	9,95	85	135	125	9,9	3,10	0,90	-
H.U.	12,08	234	224	229	2,6	4,94	2,75	-
H.M.	10,51	174	234	204	8,5	5,17	2,73	40
H.D.	9,09	105	145	125	0,0	5,30	3,42	40
H.E.	12,69	168	296	245	0,1	10,90	7,28	-
H.J.	13,36	130	189	174	51,4	7,37	2,48	-
H.M.	8,22	94	232	163	34,9	-	-	61

Tab. 12, Teil 1

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G	CHOL	TRIG	HDL
H.H.	8,04	180	149	155	5,0	-	-	35
J.H.	15,2	368	354	538	85,9	5,17	3,61	-
J.U.	11,27	123	153	143	5,2	6,59	11,30	-
J.G.	10,03	190	237	221	-	4,52	0,75	66
K.F.	15,78	203	199	201	53,7	-	-	44
K.M.	10,01	170	153	160	0,0	4,39	0,59	28
K.C.	8,35	132	174	165	0,0	3,62	0,79	26
K.E.	9,69	90	124	107	35,6	-	-	-
K.A.	10,77	178	176	177	9,1	5,55	2,56	19
K.J.	9,39	129	237	183	-	4,65	6,66	-
K.K.	9,73	129	178	167	18,2	-	-	-
K.M.	10,49	205	211	209	2,2	6,27	4,17	32
K.J.	10,55	86	94	92	0,0	4,52	1,61	-
K.D.	8,24	192	115	134	25,9	-	-	-
K.G.	11,17	91	141	124	0,0	5,55	2,12	38
K.P.	14,28	109	100	103	0,0	5,04	0,73	-
K.P.	8,59	65	124	109	0,0	4,52	0,52	58
L.W.	10,33	346	187	227	22,8	4,65	0,65	-
L.H.	9,82	140	278	232	11,7	8,53	3,51	-
L.F.	11,97	220	241	234	-	-	-	46
M.R.	11,74	237	246	271	85,1	5,55	1,70	46
M.A.	7,91	140	109	117	0,0	7,24	1,57	41
M.F.	11,30	110	163	142	9,0	7,75	1,74	77
M.M.	9,24	137	252	195	0,0	4,65	6,66	45
M.W.	10,47	154	140	147	0,0	8,53	7,70	-
M.K.	7,26	260	136	167	0,0	-	-	38
M.H.	9,55	259	313	286	49,4	-	-	-
M.B.	13,89	258	181	194	24,1	5,43	0,60	-
M.O.	11,16	300	293	294	27,0	-	-	21
M.J.	14,22	260	303	286	8,8	8,53	6,27	-

Tab. 12, Teil 2

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G	CHOL	TRIG	HDL
N.M.	15,08	168	230	199	17,94	6,72	1,87	51
N.G.	6,26	102	86	94	0,0	4,78	1,44	33
O.B.	11,05	80	233	211	25,2	5,04	0,96	32
O.P.	16,15	288	379	353	234,8	6,33	1,44	50
P.A.	8,53	146	194	175	5,2	6,59	2,04	26
Q.R.	10,69	322	297	304	51,2	4,26	1,44	33
R.M.	10,58	275	223	249	3,0	3,87	1,59	39
R.L.	10,05	223	151	187	3,9	4,39	0,59	-
R.G.	10,98	170	301	235	3,1	-	-	40
R.G.	11,25	358	374	369	58,3	7,75	1,74	26
R.J.	10,25	195	172	163	1,5	3,87	2,08	-
R.O.	12,80	98	109	102	0,0	6,59	1,09	-
R.H.	6,75	155	172	168	6,3	7,37	3,03	40
R.G.	13,33	160	227	193	13,2	6,78	2,48	38
S.U.	6,13	110	110	110	0,0	4,00	1,24	26
S.R.	10,39	172	158	162	10,1	-	-	-
S.S.	12,24	215	226	224	13,9	4,94	2,75	60
S.K.	9,79	148	135	120	4,4	6,20	2,86	44
S.A.	11,91	325	414	389	-	3,87	3,81	20
S.J.	8,28	133	140	135	0,0	4,78	1,90	51
S.P.	10,07	-	247	246	4,8	6,59	2,33	30
S.M.	10,61	225	237	232	8,4	7,49	3,29	60
S.H.	8,88	165	137	151	0,0	-	-	51
S.W.	11,68	199	212	203	18,0	7,49	3,29	46
T.F.	10,09	170	215	200	20,6	8,27	1,86	66
T.I.	8,04	130	-	130	0,0	6,59	2,04	26
U.I.	12,03	182	174	178	13,4	-	-	40
V.G.	7,03	140	116	124	1,5	4,78	2,15	20
W.L.	9,66	144	132	137	0,0	-	-	65
W.E.	10,08	254	320	294	90,0	6,59	2,33	31

Tab. 12, Teil 3

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G	CHOL	TRIG	HDL
W.C.	13,11	177	164	169	5,6	43,90	36,12	33
W.E.	10,47	165	-	165	1,0	5,30	3,60	29
W.R.	10,46	131	123	126	0,0	8,53	7,70	71
W.M.	9,88	153	162	158	0,4	8,53	3,51	43
W.E.	11,30	148	100	132	0,4	6,59	2,12	77
W.B.	12,02	134	218	197	0,0	6,20	1,35	44
W.M.	10,03	173	175	174	0,6	4,39	0,59	31
W.E.	10,99	219	334	288	8,5	3,23	1,00	73
W.A.	11,99	77	184	141	0,0	3,87	3,81	46
Z.H.	9,86	170	239	222	-	6,33	2,12	73
Z.P.	9,69	131	230	164	1,6	5,43	0,92	44

Tab. 12, Teil 4 Kohlenhydrat- und Fettstoffwechselparameter, sowie Fast Hb bei 102 stationär behandelten Diabetikern bei Beobachtung über 2 Tage

4.3.2.2. Beobachtung über 7 Tage

Zwischen Fast Hb und den über 7 Tage gemittelten Werten für NBZ, PPBZ, MBZ und 24-h Glukosurie konnten keine signifikanten Beziehungen nachgewiesen werden.

Im Einzelnen ergab sich für die Beziehung zwischen Fast Hb und NBZ ein Korrelationskoeffizient von r = 0,28 (n.s.) bei 66 Untersuchungen. Zwischen Fast Hb und PPBZ wurde ein nicht signifikanter Koeffizient von r = 0,17 durch 66 Untersuchungen ermittelt. Fast Hb und MBZ korrelierten mit r = 0,22 (n.s.) bei 66 Untersuchungen,Fast Hb und 24-h Glu= kosurie mit r = 0,10 (n.s.) bei 60 Untersuchungen (Tab. 13).

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G
A.G.	7,39	156	143	149	-
B.L.	8,20	157	172	169	0,0
B.R.	9,88	199	209	206	16,7
B.O.	11,29	105	199	164	30,2
B.K.	7,55	124	176	156	0,0
B.H.	9,54	133	164	162	28,5
B.I.	12,89	189	288	258	9,4
B.M.	12,24	168	240	210	5,6
D.M.	10,75	284	283	285	13,6
E.M.	12,87	186	181	183	0,2
E.G.	14,90	188	193	199	4,0
F.G.	6,42	126	151	141	1,9
G.E.	8,63	166	219	200	0,8
G.P.	13,72	120	143	134	1,4
G.P.	11,46	169	225	197	0,6
G.E.	9,25	176	218	201	0,0
H.U.	8,16	96	113	105	0,0
H.O.	9,95	124	167	146	0,0
H.E.	12,08	299	273	283	10,5
H.M.	10,51	168	236	213	7,0
H.E.	12,69	251	347	310	11,1
H.J.	13,22	246	221	228	58,9
H.M.	8,22	93	271	203	52,2
J.H.	13,71	254	238	203	58,9
K.F.	16,59	130	149	144	12,10
K.M.	10,10	171	152	159	0,0
K.J.	9,69	167	229	205	30,7
K.G.	9,39	178	328	287	24,5
K.P.	9,73	244	337	322	18,5
K.D.	10,55	132	130	130	0,0

Tab. 13, Teil 1

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G
K.D.	8,24	221	189	197	22,1
K.G.	11,17	125	199	179	0,3
K.P.	14,28	108	151	136	0,0
M.R.	8,51	148	173	169	3,2
M.F.	11,30	132	148	142	4,3
M.M.	9,24	181	257	225	3,6
M.W.	11,56	156	189	177	1,7
M.K.	7,26	178	160	166	1,4
M.H.	9,55	237	296	273	40,2
M.B.	11,16	252	228	235	14,2
N.M.	15,08	247	292	275	47,8
O.P.	12,76	185	170	168	59,9
P.A.	8,53	137	229	192	13,9
R.G.	10,35	221	175	182	0,6
R.J.	13,02	251	259	256	54,4
R.J.	10,25	204	221	208	2,5
R.O.	11,87	130	134	132	27,3
R.H.	5,66	172	160	150	7,9
S.R.	10,39	205	232	226	29,8
S.S.	11,88	206	223	218	76,1
S.K.	12,88	141	213	167	3,1
S.A.	15,22	220	334	302	26,5
S.J.	8,28	141	159	150	0,1
S.M.	12,26	161	170	167	2,3
S.H.	8.88	166	182	179	0,2
U.I.	12,03	172	218	211	5,8
V.G.	9,27	219	249	242	15,6
W.L.	9,66	146	186	172	0,0
W.E.	9,50	230	230	230	30,3
W.C.	10,47	141	265	208	7,8

Tab. 13, Teil 2

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G
W.M.	9,88	148	173	0,1	
W.E.	8,02	144	200	180	17,0
W.B.	14,64	158	180	173	3,6
W.M.	10,03	182	216	207	4,9
W.A.	11,99	134	252	213	14,4
Z.H.	10,82	108	156	128	4,8

Tab. 13, Teil 3
Kohlenhydratstoffwechselparameter und Fast Hb bei 66 stationär behandelten Diabetikern bei Beobachtung über 7 Tage

4.3.2.3. Beobachtung über 14 Tage

Zwischen Fast Hb und den über 14 Tage gemittelten Werten für NBZ, PPBZ, MBZ und 24-h Glukosurie wurden die nachfolgenden Korrelationen festgestellt.

Fast Hb und NBZ korrelierten bei der Untersuchung an 33 Patienten mit r = 0,30 (n.s.). Fast Hb und PPBZ korrelierten bei ebenfalls 33 Patienten mit r = 0,03 (n.s.). Fast Hb und MBZ korrelierten bei 33 Patienten mit r = 0,14 (n.s.). Fast Hb und 24-h Glukosurie korrelierten mit r = 0,14 (n.s.) bei 29 Patienten (Tabelle 14).

In keiner der oben genannten Untersuchungen konnte eine signifikante Korrelation nachgewiesen werden.

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G
B.I.	12,89	228	285	257	19,0
B.M.	8,33	165	233	207	6,1
D.M.	11,52	273	311	299	15,8
E.M.	12,87	206	189	192	0,2
G.E.	9,25	187	233	210	0,0
H.U.	8,16	98	127	117	0,0
H.O.	9,95	205	223	217	22,5
H.E.	12,08	216	205	209	7,7
H.E.	12,69	168	221	203	15,1
H.J.	13.02	248	237	240	53,3
H.M	8,22	107	271	207	51,6
K.P.	9,73	280	350	329	14,8
K.D.	10,55	182	177	179	10,9
K.P.	14,28	152	175	167	1,0
M.R.	8,51	131	172	159	3,7
M.F.	11,30	619	171	171	26,0
M.M.	9,24	200	249	224	7,7
M.W.	11,56	158	190	178	2,6
M.H.	9,55	290	336	309	46,9
M.B.	11,16	239	209	219	9,4
N.M.	9,89	187	188	188	3,6
O.P.	12,76	188	241	218	64,9
P.A.	8,53	134	193	172	10,7
R.G.	8,73	160	147	152	9,6
R.J.	10,25	197	233	216	7,0
S.K.	12,88	146	206	179	3,2
S.J.	9,30	187	291	256	21,6
S.H.	8,28	135	170	155	0,1
V.G.	9,27	200	237	221	13,0
W.E.	8,30	188	205	206	19,7

Tab. 14, Teil 1

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G
W.C.	10,47	155	296	28	8,7
W.B.	9,69	140	185	170	4,6
Z.H.	10,82	100	139	121	2,5

Tab. 14, Teil 2
Kohlenhydratstoffwechselparameter und Fast Hb bei 33 stationär behandelten Diabetikern bei Beobachtung über 14 Tage

4.3.2.4. Beobachtung über 21 Tage

Folgende Beziehungen zwischen Fast Hb und den über 21 Tage gemittelten Werten für NBZ, PPBZ, MBZ und 24-h Glukosurie wurden ermittelt.

Fast Hb und NBZ korrelierten signifikant bei 18 Patienten mit $r = 0,54$ ($p < 0,05$). Fast Hb und PPBZ korrelierten mir $r = 0,20$ (n.s.) bei 18 Patienten. Fast Hb und MBZ korrelierten mit $r = 0,32$ (n.s.) bei 18 Patienten. Fast Hb und die Werte der durchschnittlichen 24-h Glukosurie korrelierten bei 16 Patienten mit $r = o,17$ (n.s.) (Tabelle 15).

Die Beziehung von Fast Hb zu PPBZ, MBZ und der 24-h Glukosurie waren nicht signifikant.

NAME	FAST HB	NBZ	PPBZ	MBZ	G
D.M.	13,50	274	339	315	28,1
E.M.	12,87	193	192	190	0,2
H.E.	7,95	145	197	179	3,4
H.J.	11,01	226	218	220	40,2
H.M.	8,22	116	254	210	43,9
K.P.	9,73	259	314	298	13,6
K.P.	14,28	187	203	197	7,7
M.R.	8,51	132	198	176	7,6
M.F.	11,30	196	224	215	56,5
M.M.	9,89	171	228	206	6,7
M.B.	11,16	224	190	201	10,6
N.M.	9,89	181	177	178	2,7
P.A.	8,53	135	190	170	9,4
R.G.	10,35	221	205	207	7,9
R.J.	11,51	165	205	191	5,2
V.G.	9,27	192	233	214	10,3
Z.H.	10,82	104	140	130	2,5

Tab. 15
Kohlenhydratstoffwechselparameter und Fast Hb bei 18 stationär behandelten Diabetikern bei Beobachtung über 21 Tage

4.3.2.5. Fettstoffwechselparameter und Fast Hb

Bei der Gegenüberstellung von Fast Hb und Fett=stoffwechselparametern der ambulant (Tab. 11) und stationär (Tab. 12) behandelten Diabetiker fand sich eine signifikante Beziehung zwischen

Fast Hb und Gesamttriglyzeriden im Serum mit $r = 0,22$ ($p < 0,05$; $n = 129$; Abb. 13).

Zwischen Fast Hb und Serumgesamtcholesterin konnte eine Korrelation mit $r = 0,14$ (n.s. ; $n = 129$) ermittelt werden. Die Korrelation war nicht signifikant.

Fast Hb und HDL - Cholesterin im Serum zeigten bei 70 Untersuchungen (Tab. 12) ebenfalls eine nichtsignifikante Korrelation mit $r = 0,10$ (n.s.).

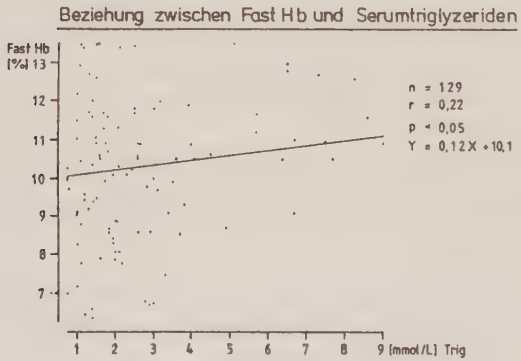

Abb. 13 Korrelation zwischen Fast Hb und Serum triglyzeriden bei 129 ambulant und stationär behandelten Diabetikern

4.3.3. Beeinflussung des Fast Hb Wertes durch Verschlechterung oder Entgleisung des Glukosestoffwechsels

Bei der Untersuchung von 5 stationär behandelten Diabetikern zeigte sich während des 13 bis 15

tägigen Klinikaufenthaltes der Patienten in den ersten 1 bis 3 Tagen eine mittlere maximale Glu= kosurie von 61,4 ± 19,3 g/d (Mean ± SEM). An allen folgenden Tagen lag die Glukosurie stabil bei 3,1 ± o,7 g/d (Mean ± SEM). Der Verlauf während der 14 Tage ist aus Abbildung 14 ersichtlich.

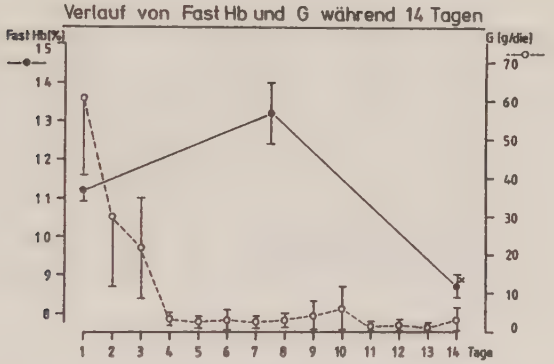

Abb. 14 Fast Hb und G (Mean ± SEM) im Verlauf von 14 Tagen bei 5 Diabetikern * $p < 0{,}001$

Der Nüchternblutzucker lag in den ersten 3 Tagen bei durchschnittlich 222 ± 38 mg/dl (Mean ± SEM) und an allen folgenden Tagen bei durchschnittlich 135 ± 6 mg/dl (Mean ± SEM). Der Verlauf des Nüchtern= blutzuckers ist aus Abbildung 15 zu ersehen.

Postprandial wurden in den ersten 3 Tagen durch= schnittlich 287 ± 46,6 mg/dl (Mean ± SEM) gemessen. An den folgenden Tagen lag der postprandiale Blut= zuckerwert bei durchschnittlich 157 ± 8,1 (Mean ± SEM) Der postprandiale Blutzuckerverlauf ist in Abbil=

dung 16 dargestellt.

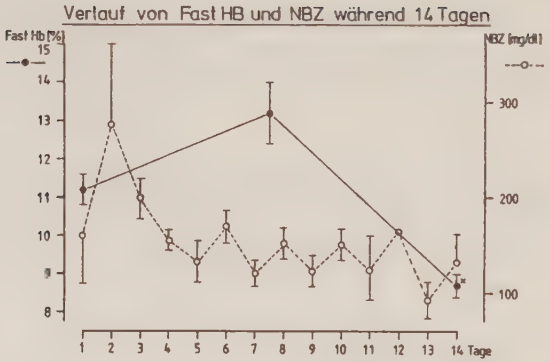

Abb. 15 Fast Hb und NBZ (Mean ± SEM) im Verlauf von 14 Tagen bei 5 Diabetikern *p<0,001

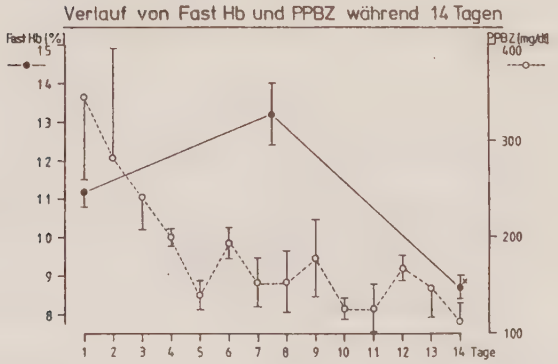

Abb. 16 Fast Hb und PPBZ (Mean ± SEM) im Verlauf von 14 Tagen bei 5 Diabetikern *p<0,001

Der mittlere Blutzucker wurde in den ersten 3 Tagen mit durchschnittlich 284 ± 41,4 mg/dl (Mean ± SEM) und an allen folgenden Tagen mit 135 ± 6,1 mg/dl (Mean ± SEM) gemessen. Der Ver= lauf dieses Parameters ist in Abbildung 17 auf= gezeigt.

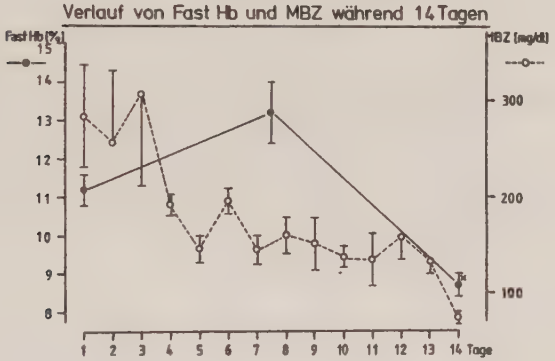

Abb. 17 Fast Hb und MBZ (Mean ± SEM) im Verlauf von 14 Tagen bei 5 Diabetikern *p < 0,001

Der Fast Hb Wert lag zu Beginn bei 11,2 ± 0,4 % Fast Hb (Mean ± SEM). Bei allen Patienten stieg das Fast Hb zwischen dem 7. und 8. Tag des stationären Aufen= haltes signifikant ($p < 0{,}001$) auf 13,2 ± 0,8 % Fast Hb an. Am Tage der Entlassung war der Fast Hb Wert signifikant auf 8,8 ± 0,3 % Fast Hb (Mean ± SEM) bei $p < 0{,}001$ gefallen (Abb. 14, 15, 16, 17).

4.4. In vitro Versuche mit Vollblut und D - Glukose

4.4.1. Vorversuch

Aus Vollblut und aus gewaschenen Erythrozyten wurde im Verlauf von 24 Stunden mehrmals der Fast Hb Wert bestimmt.

Während des Versuchsablaufs konnte keine signifikante Änderung des Fast Hb festgestellt werden. Sowohl das Aufbewahren im 37 °c warmen Wasserbad unter ständiger Bewegung, als auch das Auswaschen der Erythrozyten ließen das Meßergebnis unbeeinflußt (Abb. 18).

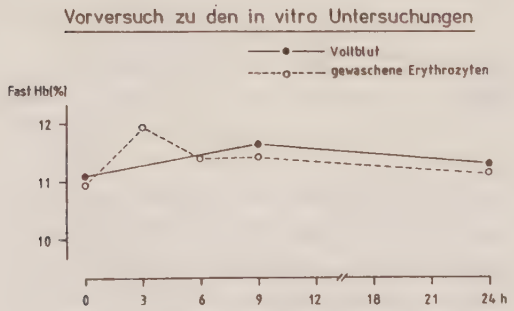

Abb. 18 Kontrolle des Fast Hb Verlaufs zur Vorbereitung auf die in vitro Inkubationen

4.4.2. In vitro Versuch mit Blutproben nichtdiabetischer Probanden

Die Inkubation von 3 nichtdiabetischen Blutproben mit 1000 mg/dl Glukose führte bereits nach einer Versuchdsdauer von nur 3 Stunden zu einem signifikanten Anstieg des Fast Hb Wertes. Bis zum Versuchsende blieb der Fast Hb Wert auf diesem erhöhten Niveau (Tab. 16)

NICHTDIABETISCHE VOLLBLUTPROBEN				
ZEIT	I	II	III	MEAN ± SEM
0 h	6,42	6,42	6,42	6,42 ± 0,00
3 h	8,93	9,01	8,97	8,97 ± 0.02
6 h	10,65	10,65	10,53	10,61 ± 0,04
9 h	9,17	9,85	9,70	9,57 ± 0,21
12 h	9,47	9,32	9,48	9,42 ± 0,05
15 h	9,53	9,61	9,61	9,58 ± 0,03
18 h	9,52	9,68	9,67	9,62 ± 0,05

Tab. 16 Fast Hb während Inkubation nichtdiabetischer Blutproben mit 1000 mg/dl Glukose

Die Entfernung der Glukose aus dem Inkubationsmedium nach 12 Stunden hatte ein kontinuierliches Absinken des Fast Hb Wertes in diesen Proben zur Folge. Bereits 3 Stunden nach dem Auswaschen waren die Fast Hb Werte in gewaschenen Erythrozyten gegegenüber den Fast Hb Werten in den weiterhin mit Glukose inkubierten Vollblutproben signifikant verschieden (Tab. 17).

NICHTDIABETISCHE BLUTPROBEN				
ZEIT	I	II	III	MEAN ± SEM
12 h	9,47	9,32	9,48	9,42 ± 0,05
13 h	8,21	8,34	8,70	8,42 ± 0,15
14 h	8,12	8,04	8,20	8,12 ± 0,05
15 h	7,77	7,55	7,55	7,62 ± 0,07
16 h	7,04	7,51	7,20	7,25 ± 0,07
17 h	7,30	7,08	7,47	7,28 ± 0,11
18 h	6,94	6,98	7,16	7,03 ± 0,07

Tab. 17 Fast Hb nach Entfernung der Glukose durch Auswaschen der inkubierten Proben

Die Messungen im Kontrollblut über die gesamte Versuchsdauer ergaben, daß die Aufbewahrung im 37 °c warmen Wasserbad den Fast Hb Wert nicht veränderte (Tab. 18).

NICHTDIABETISCHE VOLLBLUTPROBEN	
ZEIT	I - III - K
0 h	6,42
3 h	6,25
6 h	6,65
9 h	6,30
12 h	6,07
15 h	6,53
18 h	7,14

Tab. 18 Fast Hb in der parallel zu den inkubier= ten Vollblutproben mitgeführten Kontroll= blutreihen(K)

Die Messungen in den Kontrollblutproben, die nach 12 Stunden ausgewaschen wurden, zeigten, daß auch das Waschen der Erythrozyten keinen Einfluß auf den ursprünglichen Fast Hb Wert hatte (Tab. 19). Die Fast Hb Verläufe in den einzelnen Versuchsreihen sind in Abbildung 19 dargestellt.

	NICHTDIABETISCHE BLUTPROBEN
ZEIT	I - III - K - B
12 h	6,07
13 h	5,85
14 h	6,52
15 h	6,48
16 h	6,87
17 h	6,59
18 h	6,82

Tab. 19 Fast Hb in den erst nach 12 Versuchs= stunden ausgewaschenen Kontrollblut= reihen (K - B)

4.4.3. In vitro Versuch mit Blutproben diabetischer Patienten

Die Inkubation von 6 diabetischen Blutproben mit 1000 mg/dl Glukose führte zu Ergebnissen, die der Inkubation nichtdiabetischer Blutpro= ben mit Glukose entsprachen (Tab. 20, 21).

DIABETISCHE VOLLBLUTPROBEN							
ZEIT	IV	V	VI	VII	VIII	IX	MEAN ± SEM
0 h	15,75	15,75	15,75	10,50	10,50	10,50	13,12 ± 1,17
3 h	18,44	18,41	18,40	13,71	14,75	14,58	16,38 ± 0.92
6 h	19,93	19,66	19,81	14,84	14,35	13,93	17,08 ± 1,22
9 h	19,52	18,92	19,76	13,74	14,56	14,14	16,77 ± 1,18
12 h	18,41	18,18	18,72	13,65	14,11	14,36	16,23 ± 0,99
15 h	20,52	19,65	19,63	13,57	13,86	13,95	16,86 ± 1,38
18 h	18,35	18,33	18,37	14,85	13,87	14,49	16,37 ± 0,89

Tab. 20 Fast Hb während Inkubation diabetischer Blutproben mit 1000 mg/dl Glukose

DIABETISCHE BLUTPROBEN							
ZEIT	IV	V	VI	VII	VIII	IX	MEAN ± SEM
12 h	18,41	18,18	18,72	13,65	14,11	14,36	16,23 ± 0,99
13 h	18,04	18,28	19,20	13,46	13,16	13,31	15,90 ± 1,17
14 h	17,26	16,82	17,57	13,06	12,97	13,25	15,16 ± 0,93
15 h	16,88	16,35	16,87	11,93	11,91	11,96	14,32 ± 1,07
16 h	16,27	15,32	15,97	11,28	11,55	10,89	13,55 ± 1,04
17 h	15,61	15,21	15,31	10,90	11,10	10,67	13,13 ± 1,01
18 h	14,96	14,82	14,63	10,51	10,60	10,69	12,70 ± 0,94

Tab. 21 Fast Hb nach Entfernung der Glukose durch Aus= waschen der inkubierten Proben

Auch in diesem Versuch wurden Kontrollblutpro= ben über die gesamte Versuchsdauer mitgeführt, ebenso wie Kontrollblutproben, die erst nach 12 Versuchsstunden gewaschen wurden. Die Unbe=

DIABETISCHE VOLLBLUTPROBEN			
ZEIT	IV - VI - K	VII - IX - K	MEAN ± SEM
0 h	15,75	10,50	13,13 ± 2,63
3 h	15,69	10,30	13,00 ± 2,70
6 h	15,86	10,31	13,09 ± 2,78
9 h	15,54	9,81	12,68 ± 2,87
12 h	14,44	9,69	12,07 ± 2,38
15 h	15,96	9,63	12,80 ± 3,17
18 h	15,25	10,34	12,80 ± 2,46

Tab. 22 Fast Hb in den parallel zu den inkubierten Vollblut=proben IV bis VI bzw. VII bis IX mit-geführten Kon=trollblutreihen (IV - VI - K; VII - IX - K)

DIABETISCHE BLUTPROBEN							
ZEIT	IV	V	VI	VII	VIII	IX	MEAN ± SEM
0 h	15,33	15,17	15,27	10,06	10,08	10,14	12,67 ± 1,57
3 h	15,15	14,45	14,22	9,59	9,69	9,47	12,10 ± 1,13
6 h	15,13	15,22	14,84	9,66	10,64	10,14	12,61 ± 1,11
9 h	14,87	15,41	15,44	9,31	9,32	9,33	12,28 ± 1,33
12 h	14,10	13,73	13,72	11,35	9,12	9,36	11,90 ± 0,93

Tab. 23 Fast Hb in den bereits zu Beginn ausgewaschenen kontrollblutreihen (K - A)

einflußbarkeit des Fast Hb Wertes durch Wärme=einwirkung und Waschen der Erythrozyten wurden ebenfalls nachgewiesen. Messungen in zusätzlich eingerichteten Kontrollblutreihen, die bereits zu Beginn gewaschen und über die ersten 12 Stun=den mitgeführt wurden, zeigten, daß andere Fakto=

ren, beispielsweise bedingt durch die diabetische Stoffwechsellage, den Fast Hb Wert in diesem Versuch nicht beeinflußten (Tab. 22, 23, 24). Die Fast Hb Verläufe in den einzelnen Versuchsreihen sind aus Abbildung 20 ersichtlich.

	DIABETISCHE BLUTPROBEN						
ZEIT	IV	V	VI	VII	VIII	IX	MEAN ± SEM
12 h	14,44	14,44	14,44	9,69	9,69	9,69	12,07 ± 1,06
13 h	14,88	14,24	15,25	9,54	9,65	9,55	12,19 ± 1,17
14 h	16,59	14,55	15,66	10,28	10,20	10,79	13,00 + 1,19
15 h	15,35	15,54	14,99	9,67	9,55	9,70	12,47 ± 1,27
16 h	14,75	14,25	13,84	9,81	9,99	9,81	12,08 + 0,99
17 h	14,46	16,78	14,78	10,04	9,82	9,97	12,64 ± 1,25
18 h	14,87	14,99	14,51	9,77	9,93	9,92	12,32 ± 1,11

Tab. 24 Fast Hb in den erst nach 12 Versuchstsunden ausgewaschenen Kontrollblutproben (K - B)

4.4.4. In vitro Versuch mit diabetischen, hyperlipämischen Blutproben

Die Inkubation von 3 diabetischen, hyperlipämischen Blutproben zeigte die gleichen Ergebnisse wie die Inkubation von nichtdiabetischen und diabetischen, normolipämischen Blutproben (Tab. 25). In den nach 12 Versuchsstunden gewaschenen inkubierten Proben sinkt der Fast Hb im Verlauf der weiteren 6 Stunden bis zum Versuchsende unter das Ausgangsniveau (Tab. 26). Dieser Effekt ist auf den Einfluß der Hyperlipä=

DIABETISCHE, HYPERLIPÄMISCHE VOLLBLUTPROBEN				
ZEIT	X	XI	XII	MEAN ± SEM
0 h	13,12	13,12	13,12	13,12 ± 0,00
3 h	16,20	16,12	15,94	16,09 ± 0,08
6 h	16,67	16,67	16,67	16,67 ± 0,00
9 h	16,36	16,14	15,84	16,11 ± 0,15
12 h	15,13	15,08	15,03	15,08 + 0,03
15 h	15,19	14,80	14,68	14,89 ± 0,15
18 h	15,41	15,38	15,25	15,35 ± 0,05

Tab. 25 Fast Hb während der Inkubation diabetischer, hyperlipämischer Blutproben mit 1000 mg/dl Glukose

DIABETISCHE, HYPERLIPÄMISCHE BLUTPROBEN				
ZEIT	X	XI	XII	MEAN ± SEM
12 h	15,13	15,08	15,03	15,08 ± 0,03
13 h	13,18	13,50	12,08	12,92 ± 0,43
14 h	12,29	12,61	12,43	12,44 ± 0,09
15 h	12,10	11,92	12,36	12,13 ± 0,13
16 h	10,45	10,46	10,53	10,48 ± 0,03
17 h	11,23	11,71	11,17	11,37 ± 0,17
18 h	11,48	11,76	11,50	11,58 ± 0,09

Tab. 26 Fast Hb nach Entfernung der Glukose durch Auswaschen der inkubierten Proben

mie zurückzuführen. Dieser wird beim Vergleich der Fast Hb Verläufe in den vom Anfang bis zur 12.Stunde mitgeführten Kontrollblutreihen bzw.

gewaschenen Kontrollblutreihen (K - A) sichtbar (Tab. 27, 28). Dem entspricht auch der Fast Hb Verlauf der erst nach 12 Stunden ausgewaschenen Kontrollblutreihen (K - B). Hier liegt der Fast Hb

DIABETISCHE, HYPERLIPÄMISCHE BLUTPROBEN	
ZEIT	X - XII - K
0 h	13,12
3 h	13,53
6 h	13,44
9 h	12,64
12 h	11,96
15 h	12,91
18 h	13,73

Tab. 27 Fast Hb in den parallel zu den inkubierten Blutproben X bis XII mitgeführten Kontrollblutproben (K)

DIABETISCHE, HYPERLIPÄMISCHE BLUTPROBEN				
ZEIT	X	XI	XII	MEAN ± SEM
0 h	12,11	11,80	11,96	11,96 ± 0,09
3 h	11,39	11,48	11,09	11,32 ± 0,12
6 h	11,87	11,54	11,76	11,72 ± 0,10
9 h	11,32	11,07	11,04	11,14 ± 0,09
12 h	10,68	10,93	10,96	10,87 ± 0,39

Tab. 28 Fast Hb in den bereits zu Beginn ausgewaschenen Kontrollblutreihen (K - A)

ebenso deutlich unterhalb des Niveaus der Kon= trollblutreihe K (Tab. 29).

DIABETISCHE, HYPERLIPÄMISCHE BLUTPROBEN				
ZEIT	X	XI	XII	MEAN ± SEM
12 h	11,96	11,96	11,96	11,96 ± 0,00
13 h	10,58	10,59	10,38	10,52 ± 0,07
14 h	10,58	10,44	10,55	10,52 ± 0,04
15 h	10,91	10,68	10,86	10,82 ± 0,07
16 h	9,69	9,78	9,95	9,81 ± 0,08
17 h	11,81	11,59	11,99	11,80 + 0,12
18 h	11,28	11,53	11,58	11,46 ± 0,09

Tab. 29 Fast Hb in den erst nach 12 Versuchs= stunden ausgewaschenen Kontrollblut= reihen (K - B).

Alle Kontrollblutreihen, die auch hier entsprechend den vorhergehenden in vitro Versuchsreihen mitge= führt wurden, zeigen, daß Wärmeeinwirkung und Aus= waschen keinen Einfluß auf den Fast Hb Wert haben. Jedoch ist zu berücksichtigen, daß durch das Aus= waschen der Proben nicht nur die Glukose entfernt wird, sondern auch andere Stoffe, wie beispiels= weise Serumlipide, die den Fast Hb Wert artifi= ziell anheben. Die Fast Hb Verläufe dieses in vitro Versuchs sind in den Abbildungen 19 - 21 aufgezeichnet.

4.4.5. Zusammenfassung der in vitro Ergebnisse

Der in jedem der in vitro Versuche gleichbleibende Einfluß der Inkubation von Blutproben mit 1000 mg/dl

Glukose wird durch Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Versuchen mit 3 nichtdiabetischen und 6 diabetischen, normolipämischen Blutproben deutlich (Abb. 22).

Die in vitro Inkubationen wurden jeweils mit einer Glukosekonzentration von ca. 1000 mg/dl begonnen. Während der Inkubation über 18 Stunden betrug der Verlust an Glukose in den inkubierten Blutproben 153 ± 3,9 mg/dl (Mean ± SEM). Diese Verlustrate ist dem Glukoseeigenverbrauch der Erythrozyten bei 37 °c zuzurechnen (Abb. 23).

In den Abbildungen zu den jeweiligen Inkubationsversuchen (Abb. 19, 20, 21, 22) ist immer der Durchschnittswert für Fast Hb (Mean ± SEM) dargestellt. (●———●Inkubierte Vollblutproben;●------●gewaschene (ink.) Blutproben,⊙—·—⊙Kontrollblutreihe (K), ⊙-··—··-⊙Kontrollblutreihe (K-A),⊙·····⊙Kontrollblutreihe (K-B))

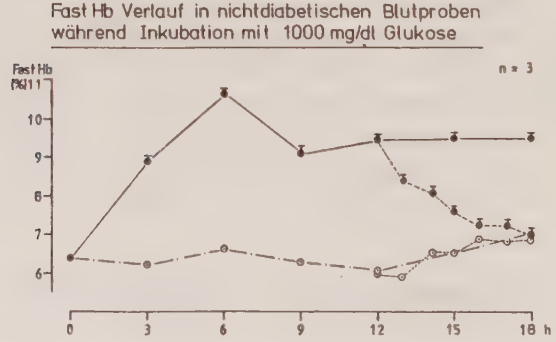

Abb. 19 Modifikation des Fast Hb Wertes durch Inkubation von nichtdiabetischen Blutproben über 18 Stunden

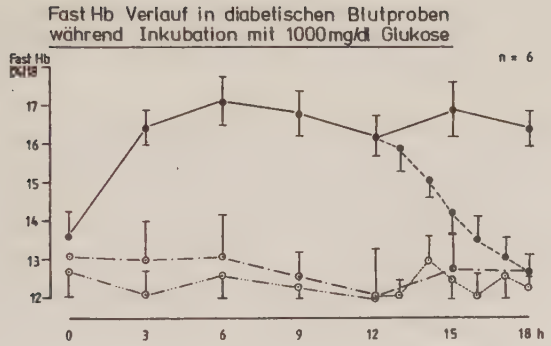

Abb. 20 Modifikation des Fast Hb Wertes durch Inkubation von diabetischen Blutproben über 18 Stunden

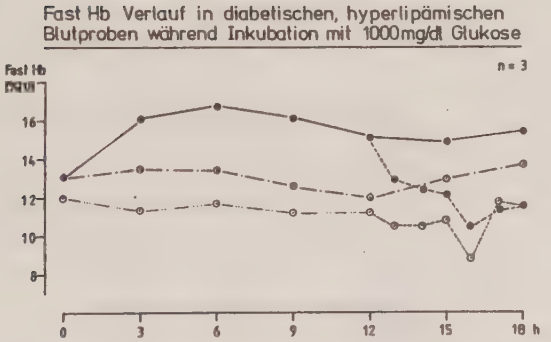

Abb. 21 Modifikation des Fast Hb Wertes durch Inkubation von diabetischen, hyperlipämischen Blutproben über 18 Stunden

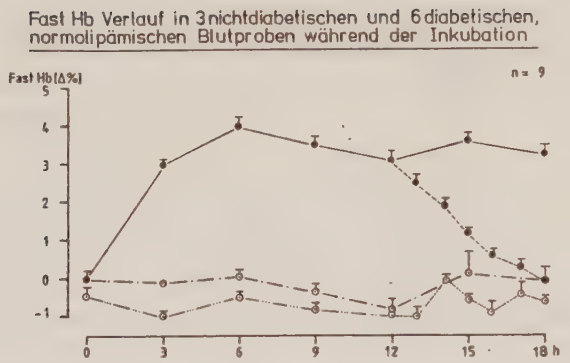

Abb. 22 Zusammenfassung der Ergebnisse aus den in vitro Versuchen mit nichtdiabetischen und diabetischen, normolipämischen Blutproben. Angegeben sind die Veränderungen des Fast Hb Wertes, bezogen auf den Ausgangswert

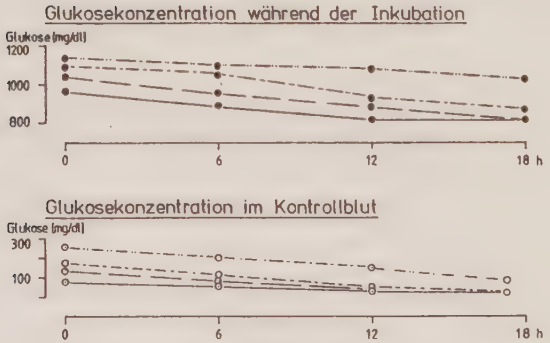

Abb. 23 Verlauf der Glukosekonzentrationen während der 18 stündigen Versuchsdauer

———— Probe I-III — · — · — · — Probe IV-VI

— — — Probe VII-IX — · — · — Probe X-XII

4.4.6. Fast Hb Bestimmung vor und nach oralem Glukose=toleranztest

Die Glukosebelastung, die in Form eines oralen Glukosetoleranztestes bei 23 Patienten durchge=führt wurde, hatte unabhängig von der Höhe des 2-h OGTT Blutzuckerwertes keine signifikante Än=derung des Fast Hb Wertes zur Folge (Tab. 30, 31, Abb. 24). Der Fast Hb Wert lag vor der oralen Glukosebelastung bei 7,21 ± 0,22 % Fast HB (Mean ± SEM). Nach der Glukosebelastung wurde ein Wert von 7,23 ± 0,22 % Fast Hb (Mean ± SEM) gefunden.

NAME	2-H OGTT	1.FAST HB	2.FAST HB	DIFF.
M.A.	150	6,08	7,06	+ 0,98
H.A.	115	7,55	7,62	+ 0,07
A.B.	107	6,58	6,14	- 0,44
W.B.	109	6,61	6,09	- 0,52
K.B.	105	6,98	6,67	- 0,31
E.P.	180	6,69	7,32	+ 0,63
M.D.	207	6,41	6,98	+ 0,57
P.D.	255	8,72	9,64	+ 0,92
W.F.	242	8,21	8,23	+ 0,02
J.S.	83	6,58	6,11	- 0,47
M.K.	107	5,64	5,40	- 0,24
K.R.	164	8,93	7,27	- 1,66
H.K.	122	6,15	6,88	+ 0,73
H.L.	99	5,97	6,36	+ 0,39
W.L.	130	8,92	8,79	- 0,13
R.L.	133	6,65	6,55	- 0,10

Tab. 30, Teil 1

NAME	2-H OGTT	1. FAST HB	2. FAST HB	DIFF.
M.S.	108	6,03	6,10	- 0,15
K.S.	267	7,97	6,79	- 1,18
R.W.	103	7,76	8,85	+ 0,99
M.W.	125	7,32	7,48	+ 0,16
H.W.	63	6,88	7,59	+ 0,71
W.I.	102	8,05	7,83	- 0,22
E.K.	182	9,17	8,40	- 0,77
$\bar{M}$	140	7,21	7,23	- 0,09
$\pm$SEM	11,4	0,22	0,22	0,14

Tab. 30 Vergleich der Fast Hb Werte bei 23 Patienten vor bzw. nach einer oralen Glukosebelastung (OGTT)

	2-H OGTT	1. FAST HB	2. FAST HB	DIFF.
$\bar{M}$	102	6,96	6,84	- 0,15
$\pm$SEM	4,4	0,28	0,29	0,20

Tab. 31 Gruppe A

Zusammenfassung der Werte für OGTT und Fast Hb bei 23 Patienten mit 2-h OGTT Blutzuckerwerten bis 120 mg/dl

	2-H OGTT	1. FAST HB	2. FAST HB	DIFF.
$\bar{M}$	146	7,28	7,50	- 0,07
$\pm$SEM	9,6	0,48	0,31	0,24

Tab. 31 Gruppe B

Zusammenfassung der Werte für OGTT und Fast Hb bei 7 Patienten mit 2-h OGTT Blutzuckerwerten von 121 mg/dl bis 200 mg/dl

	2-H OGTT	1. FAST HB	2. FAST HB	DIFF.
$\bar{M}$	243	7,83	7,91	- 0,62
±SEM	13,0	0,50	0,66	1,06

Tab. 31 Gruppe C
Zusammenfassung der Werte für OGTT und Fast Hb bei 4 Patienten mit 2-h OGTT Blutzuckerwerten über 200 mg/dl

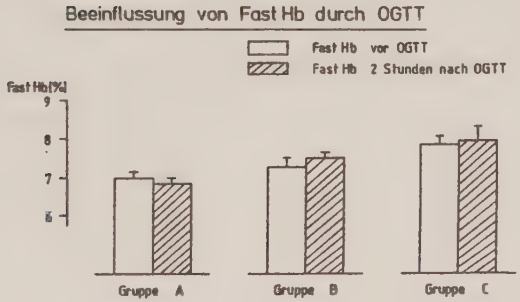

Abb. 24 Versuch zur Beeinflussung des Fast Hb Wertes durch orale Glukosebelastung (OGTT)

5. Diskussion

5.1. Durchführung der Fast Hb Bestimmung mit dem Isolab^{R} Mikrosäulentestsystem

5.1.1. Reproduzierbarkeit der Testergebnisse

Ziel der Untersuchungen war es, zu prüfen, inwieweit das Isolab^{R} Mikrosäulentestsystem zur Bestimmung des Fast Hb den Anforderungen genügt, die an eine Labormethode gestellt werden. Besondere Bedeutung kommt dabei der Streubreite der einzelnen Testergebnisse zu. Je geringer die Streuung ist, desto besser ist die Reproduzierbarkeit der Meßergebnisse. Ein Maß für die Streuung ist der Variationskoeffizient (97). Dieser ergibt sich aus Mehrfachbestimmungen einer einzigen Probe als Intra - Assay Variationskoeffizient. Mehrere, von Tag zu Tag aufeinanderfolgende Bestimmungen einer einzelnen Probe führen zum Inter - Assay Variationskoeffizient. Als üblicher Maximalwert, den der Variationskoeffizient für eine unkomplizierte analytische Methode im Bereich der klinischen Chemie nicht überschreiten sollte, gelten 5 % (109). Da der Hersteller des Mikrosäulentestsystems, die Firma Isolab^{R}, in der entsprechenden Gebrauchsanleitung einen maximalen Variationskoeffizienten von 6 % zuläßt, wurde dieser Wert in der vorliegenden Arbeit bei den Untersuchungen als Maß für die Präzisionskontrolle zugrunde gelegt.

Da frisch entnommenes Blut extravasal sehr rasch gerinnt, lag es nahe, ein Antikoagulanz hinzuzufügen. Es wurden dazu K^{+} -EDTA beschichtete Probenröhrchen, wie sie für hämatologische Unter-

suchungen gebräuchlich sind, verwendet. In diesen Röhrchen wurde das Blut sofort nach der Entnahme antikoaguliert.

Durch vergleichende Fast Hb Bestimmung aus anti= koagulierten und nicht antikoagulierten Blutproben sollte geprüft werden, ob der Zusatz von K^+ -EDTA einen Einfluß auf den Meßwert bzw. auf die Streuung innerhalb mehrerer Meßergebnisse hat. Bei der Gegen= überstellung der Ergebnisse konnte zwischen den Fast Hb Werten antikoagulierter bzw. nichtantiko= agulierter Blutproben kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der Intra - Assay Variations= koeffizient war innerhalb der Meßwerte aus antiko= agulierten Blutproben ($\pm$ 1,7%) gegenüber dem Koeffizienten aus nicht antikoagulierten Proben ($\pm$ 2,5%) kleiner, die Differenz war jedoch nicht signifikant.

Für den Ausfall des Fast Hb Tests ist es daher unerheblich, ob Antikoagulanz (K^+ -EDTA) zuge= setzt wird oder nicht, solange die entnommene Blutprobe sofort nach der Entnahme untersucht werden kann. Wegen der schnell einsetzenden Ge= rinnung empfiehlt es sich jedoch, K^+ -EDTA be= schichtete Probenröhrchen zu verwenden.

Aus den 10 - fach Bestimmungen von 5 Blutproben ergab sich ein Intra - Assay Variationskoeffizient von $\pm$ 3,8 %. Dieser Wert entspricht den von Abraham und Mitarbeitern (1) gefundenen Ergebnissen und zeigt eine gute Reproduzierbarkeit der Methode an.

Der durch Untersuchung einer Blutprobe an mehreren aufeinander folgenden Tagen ermittelte Inter - Assay Variationskoeffizient war gegenüber dem Intra - Assay Variationskoeffizient größer. Dies ist dadurch zu erklären, daß eine Reihe von Bedingungen, die einen Einfluß auf das Analyseergebnis haben, sich von Tag zu Tag ändern können. Nichtzuletzt unterliegen die verwendeten Blutproben im Verlauf einiger Tage bestimmten Änderungsprozessen, beispielsweise der enzymatischen Proteolyse, deren Ausmaß wesentlich von der Art der Lagerung abhängig ist.

Die bei - 18 ° tiefgefrorenen Blutproben wiesen am 7. Tag nach der Entnahme einen Inter - Assay Variationskoeffizient von $\pm$ 5,9 % auf. Am nächsten Tag wurde die 6 % - Grenze mit 7,4 % deutlich überschritten. Die bei + 2 ° C gekühlt gelagerten Proben waren nur bis zum 4. Tag nach der Entnahme verwendbar ($\pm$ 5.5 %). Um den Einfluß unvermeidbarer Auswirkungen auf die Meßergebnisse möglichst gering zu halten, wurde für alle Untersuchungen nur frisch entnommenes oder nicht länger als 7 Tage bei - 18 ° tiefgefroren gelagertes Blut verwendet.

Für die qualitative Einschätzung eines Laborparameters ist nicht nur die Präzisionskontrolle mit Hilfe des Variationskoeffizienten notwendig, sondern auch die Richtigkeitskontrolle mittels Verwendung eines Standards, das heißt einer Probe mit definiertem Gehalt an Fast Hb. Der Fast Hb Wert wurde aus dem von der Firma Isolab^{R} gefertigten Standard

an 5 Tagen bestimmt. Am 4. Tag lag der Inter - Assay Variationskoeffizient, bezogen auf den Ausgangswert, bei ± 1,1 %. Am 5. Tag war die Vertrauensgrenze mit ± 6,4 % überschritten. Der ermittelte Fast Hb Wert unterschied sich jedoch wesentlich von dem Wert, den der Hersteller für diesen Standard angibt. Die Herstellung eines Standards mit definiertem Fast Hb Gehalt bereitet noch Probleme. Isolab^{R} bietet ein Hämolysat an, daß in einer CO - Atmosphäre luftdicht verschlossen ist. Eine der Schwierigkeiten liegt in der Stabilisierung des Hämolysats über einen längeren Zeitraum, was schon daraus abgeleitet werden kann, daß die Fa. Isolab^{R} kein Verfallsdatum angeben kann. Die Abweichung des aus dem Standard gemessenen Fast Hb Wertes ist also wahrscheinlich auf die Instabilität des Hämolysats zurückzuführen.

Der Vergleich der beiden Alternativ-Methoden von Isolab^{R} zeigt, daß die Fast Hb Werte, gemessen mit der Methode 2 gegenüber den mit der Methode 1 gemessenen Werten höher liegen. Der prozentuale Unterschied liegt aber innerhalb der durch den Intra - Assay Variationskoeffizienten bestimmten Vertrauensgrenzen des Testsystems.

Im Vergleich der beiden Testverfahren Bio Rad^{R} und Isolab^{R} ist der prozentuale Unterschied deutlich höher und liegt außerhalb der normalen Streubreite der Testergebnisse. Eine Erklärung für diese Differenz konnte nicht gefunden werden, allerdings ist die Anzahl der Vergleichsproben für eine repräsentativ vergleichende Studie zu gering.

5.1.2. Beeinflussung der Testergebnisse

Die Funktion des Mikrosäulentestsystems und damit der ermittelte Fast Hb Wert können durch mehrere Faktoren beeinflußt werden.

In Säulen, die über längere Zeit, d.h. 4 - 8 Wochen, gelagert wurden, sammelten sich Luftblasen im Inneren der Säule an, während das Ionenaustauscherharz zusammensinterte. Die Folge war eine verzögerte Elution der Säulen. Nach Angaben des Herstellers sollten für die Eluierung der Fast Hb Fraktion 30 Minuten Laufzeit nicht überschritten werden. Trotz sorgfältiger und genauer Handhabung des Testsystems konnte die Laufzeit von 30 Minuten nicht immer eingehalten werden. Die dadurch möglicherweise entstehenden Abweichungen der Testergebnisse vom wahren Wert konnten durch Mehrfachbestimmungen gering gehalten werden.

Wie alle chromatographischen Untersuchungsmethoden ist die Fast Hb Bestimmung mit dem Mikrosäulentestsystem stark temperaturabhängig. Zunehmende Umgebungstemperatur bei der Durchführung der Bestimmung führt zu einem Ansteigen der Fast Hb Werte (110). Die fälschliche Erhöhung der Fast Hb Werte ist im Zusammenhang mit einer PH - Verschiebung in den Eluierlösungen zu sehen (Abb.25). Daher ist es unerläßlich, darauf zu achten, daß die Umgebungstemperatur und die Temperatur aller benötigten Proben und Lösungen während der Durchführung der Bestimmung zwischen 22 und 24 °C beträgt. Eine

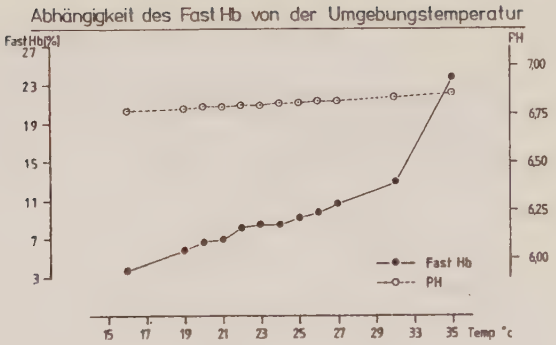

Abb. 25 Einfluß von Temperaturänderungen auf den PH - Wert der Eluierlösungen und auf den Fast Hb Wert (110)

konstante Temperatur ist praktisch nur in voll= klimatisierten Räumen zu erreichen. Dadurch wird eine Anwendung des Testsystems im Routinelabor erschwert, weil diese Idealbedingungen oft nicht gewährleistet sind.

Die Bestimmung des Fast Hb aus dem Vollblut ver= einfacht zwar die Durchführung,andererseits jedoch kommen weitere Störmöglichkeiten zum Tragen. Trü= bungen im Serum stören die Messung der optischen Dichte (109). Aus diesem Grunde wurde ein Vergleich von Fast Hb in normo- und hyperlipämischen Blut= proben durchgeführt. Bei den hyperlipämischen Blut= proben zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Fast Hb Werten aus dem Vollblut und denen aus gewaschenen Erythrozyten. Da diese Diffe= renz der Fast Hb Werte bei den normolipämischen Blutproben nicht gezeigt werden konte, ist davon auszugehen, daß die Veränderung des Fast Hb Wertes

durch Waschen der Erythrozyten kausal auf eine Hyperlipämie zurückzuführen ist. Bei bekannter Hyperlipämie des Patienten oder optisch sichtbarer Trübung des Serums empfiehlt es sich daher, die zu untersuchenden Blutproben vor der Fast Hb Bestimmung zu waschen. Grundsätzlich sollte bei allen Patienten der Fast Hb Wert aus dem Nüchternblut bestimmt werden, um auch den Einfluß nahrungsbedingter im Serum auftretender Chylomikronen auszuschalten.

5.2. Fast Hb und Glukoseintoleranz bei übergewichtigen Patienten

Adipositas geht in 45 - 75 % aller Fälle mit einer erniedrigten Glukosetoleranz einher. Die Fettsucht stellt den statistisch bedeutsamsten Manifestationsfaktor für den Diabetes Mellitus dar (63).

In einer 10 - jährigen Verlaufsstudie beobachteten Toeller und Mitarbeiter (126) eine Diabetesmanifestation in einem Drittel der beschriebenen Fälle. Diese Ergebnisse unterstreichen die Wichtigkeit einer Früherkennung des Diabetes Mellitus bei Personengruppen mit einer derartig hohen Morbiditätsrate.

Außer dem üblichen oralen Glukosetoleranztest wurde von verschiedenen Untersuchern die Bestimmung

des Hb A_{1c} herangezogen. Der OGTT liefert als Funktionstest eine Aussage über die momentane Stoffwechselleistung. Der Fast Hb Wert bezieht sich auf eine zurückliegende Zeitdauer. Dennoch sind die Aussagen beider Methoden vergleichbar, wenn man davon ausgeht, daß Patienten mit einer er= niedrigten Glukosetoleranz passagere Hyperglykämien aufweisen. Ditzel und Mitarbeiter (35) bewerten Hb A_{1c} als empfindlichen Indikator für eine gestör= te Glukosetoleranz. Im Gegensatz dazu berichten Santiago und Mitarbeiter (112) über normale Hb A_{1c} Spiegel bei Patienten mit einem 2-h OGTT Wert von über 200 mg/dl.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß 9 % (n = 6) der Patienten mit normalem Ausfall des OGTT einen erhöhten Fast Hb Spiegel aufweisen. Eine Erklärung für dieses Phänomen konnte nicht gefunden werden, zumal die Serumtriglyzeridwerte als möglicher Störfaktor nur leicht erhöht waren.

Bei einer ähnlichen Untersuchung fanden Santiago und Mitarbeiter (113) bei 5 % (n = 6) der Patienten mit normalem OGTT - Ausfall erhöhte Hb A_{1c} Werte. Auch hier konnte keine Begründung für die Diskre= panz angegeben werden.

In den vorliegenden Untersuchungen wiesen etwa 92 % (n = 39) der Probanden mit fraglich pathologischem 2-h OGTT ein normales Fast Hb auf. Nur 7 % (n = 3) konnten auch nach ihrem Fast Hb Wert als diabetes= verdächtig eingestuft werden.

Sogar bei sicher pathologischen 2-h OGTT Werten wiesen 85 % (n = 28) der Patienten Fast Hb Werte im Normbereich auf. Von den 11 Patienten mit 2-h OGTT Werten über 200 mg/dl schließlich wiesen ca. 36 % (n = 4) erhöhte Fast Hb Werte auf.

Diese Beobachtungen zufolge erscheint die Bedeutung des Fast Hb als Screeningverfahren für eine Glukose=toleranzstörung fraglich. Von anderen Autoren werden normale Hb A_1 bzw. Hb A_{1c} Werte bei nachgewiesener Glukosotoleranzstörung ebenfalls beschrieben (112,113).

Bei der Gegenüberstellung der Werte für Fast Hb und 2-h OGTT konnte keine statistisch signifikante Korrelation gefunden werden. Auch eine Untertei=lung der Meßergebnisse in verschiedene Gruppen, entsprechend dem Ausfall des oralen Glukosetoleranz=testes änderte hieran nichts. Santiago und Mitarbeiter (112) kamen bei Verwendung der Hb A_{1c} Bestimmung zum gleichen Resultat. Koenig und Mitarbeiter (81) stießen jedoch auf eine hohe positive Korrelation zwischen Hb A_{1c} und 2-h OGTT Wert.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß sich auf Grund der vorliegenden Untersuchungen die Be=stimmung des Fast Hb mit dem Isolab^R - Mikro=säulentestsystem nicht als geeignete Screening Methode eines noch nicht manifestierten Diabetes Mellitus erwiesen hat.

Auf Grund einer fehlenden Beziehung zwischen beiden Testverfahren kann auch nicht vom 2-h OGTT Wert auf den Fast Hb Wert oder umgekehrt geschlossen werden. Ein erhöhtes Fast Hb kann auf das Vorliegen eines Diabetes hinweisen, ein normales Fast Hb schließt ihn auf keinen Fall aus.

Somit kann die Fast Hb Bestimmung mit dem Isolab^{R} Mikrosäulentestsystem nicht als valides Verfahren für die Diagnostik von Kohlenhydrattoleranzstö= rungen angewendet werden.

5.3. Bewertung der Stoffwechsellage diabetischer Patienten mit Hilfe des Fast Hb

5.3.1. Kohlenhydratstoffwechsel und Fast Hb

Hb A_{1c} wird von vielen Autoren als Langzeitpara= meter der diabetischen Stoffwechsellage angesehen (1,36,51,55,58,65). Die Begründung dafür liegt in der langsamen Reaktion, mit der Glukose entsprechend der Konzentration im Blut irreversibel an das Hämo= globin gekoppelt wird (19). Da die Lebensdauer der Erythrozyten bis zu 120 Tage beträgt, wird davon ausgegangen, daß Hb A_{1c} retrospektiv die durch= schnittliche Blutzuckerkonzentration widerspiegelt, die während dieser Zeit, zumindest aber während der vorangegangenen 4 Wochen vorherrschte (19,48, 50,64,101,123,129). Graham und Mitarbeiter stellten dagegen fest, daß die Lebensdauer der Erythrozyten bei Verschlechterung der diabetischen Stoffwechsel= lage verkürzt sei (62). Auf die daraus resultie= rende Gewebshypoxie reagierten die Patienten mit einer verstärkten Neubildung von Erythrozyten (34).

Diese Beobachtungen lassen den Schluß zu, daß auch rasche Änderungen des Gehaltes an glykosyliertem Hämoglobin auf Grund von Veränderungen der Erythro= zyten - Turnover - Rate möglich sind.

Karamanos und Mitarbeiter berichten über die Beeinflussung des Hb A_{1c} Wertes durch kurzfristige Glukoseschwankungen (75).

Den glykosylierten Hämoglobinen Hb A_{1a+b+c} bzw. Hb A_1 oder Fast Hb werden die gleichen Eigenschaften zugesprochen, bezogen auf die Langzeitkontrolle des Diabetes Mellitus, wie dem Hb A_{1c} (1,20,29,83). Der Fast Hb Wert wurde in verschiedenen Untersuchungen mit Werten für Nüchternblutzucker, postprandialen Blutzucker und Glukosurie in Beziehung gesetzt (1,31,41,60,61,85). Dabei wurden zum einen die genannten Kohlenhydratstoffwechselparameter über längere Zeiträume gemittelt und mit dem am Ende des Zeitraumes gemessenen Fast Hb in Beziehung gesetzt. Zum anderen wurden Glukosestoffwechselparameter einmalig bestimmt und mit den Fast Hb Werten verglichen, die 1, 2 oder 3 Monate später gemessen wurden.

In der vorliegenden Untersuchung fand sich bei der Gegenüberstellung von Fast Hb Werten und postprandialen Blutzuckerwerten, die am gleichen Tag gemessen wurden, bei 46 ambulant betreuten Diabetikern eine sehr enge Beziehung zwischen beiden Parametern ($r = 0,70$). Auch die 24-h Glukosurie des Vortages korrelierte signifikant mit dem Fast Hb ($r = 0,57$). Die Ergebnisse lassen nur 2 Erklärungen zu. Einerseits könnte die Stoffwechsellage der Patienten in den letzten Wochen außerordentlich stabil gewesen sein, dann entspräche der gemessene Fast Hb Wert ebenso wie der aktuelle Blutglukosewert der langfristig vorherrschenden Stoffwechsellage. Andererseits sind Schwankungen

im Glukosestoffwechsel bei Diabetikern nicht selten. In diesem Fall muß angesichts der engen Beziehung zwischen Fast Hb und den aktuell gemessenen Stoffwechselparametern davon ausgegangen werden, daß Glukosekonzentrationsänderungen den Fast Hb Wert kurzfristig beeinflussen (56).

Unter Berücksichtigung dieser Problematik wird die Fragwürdigkeit einer einzelnen Fast Hb Bestimmung sichtbar, zumal dann, wenn keine weiteren Daten zur Beurteilung des Glukosestoffwechsels während des Zeitraumes vor der Fast Hb Bestimmung vorhanden sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine genauere Untersuchung an 102 stationär behandelten Diabetikern durchgeführt. Eine Aufteilung in verschieden lange Beobachtungszeiträume sollte Aufschluß darüber geben, ob sich die Beziehung zwischen Fast Hb und Glukosestoffwechsel dynamisch verhält. Bis heute besteht keine eindeutige Klarheit darüber, welcher der gemessenen Blutzuckerwerte durch das $Hb\,A_{1c}$ bzw. Fast Hb am besten wiedergegeben wird (57).

In dieser Arbeit wurden außer dem Nüchternblutzucker auch postprandial gemessene Blutzuckerwerte herangezogen. Der mittlere Durchschnittsblutzucker (MBZ) sollte ein ausgeglicheneres Bild der Stoffwechsellage liefern. Dies erschien besonders im Hinblick auf diejenigen Patienten wichtig, deren Nüchternblutzuckerwerte, bedingt durch nächtliche Hypoglykämien gegenüber der tatsächlich vorherrschenden Situation im Verlauf von 24 Stunden zu niedrig

erscheinen und dadurch das Gesamtbild der Stoff=
wechsellage verzerren.

Auch postprandiale Blutzuckerwerte, die auf Grund eines deutlichen, aber kurzfristigen Anstiegs nach Nahrungszufuhr das Bild der durchschnittlichen Stoffwechsellage nach oben verschieben, konnten so relativiert werden. Zwar wurde der Blutzucker nur tagsüber bestimmt, die Beurteilung der nächt=
lichen Glukosestoffwechsellage wurde jedoch durch die Messung der 24-h Glukosurie ermöglicht.

Die enge Beziehung zwischen Fast Hb und dem Nüch=
ternblutzucker (r = 0,33), dem postprandialen Blut=
zucker (r = 0,36), dem mittleren Blutzucker (r = 0,42) und der 24-h Glukosurie (r = 0,44) bei 102 stationär behandelten Diabetikern während des kurzen Zeitraumes von 2 Tagen entspricht den Beob=
achtungen bei den ambulant betreuten Diabetikern. Diese Ergebnisse und die fehlende statistisch sig=
nifikante Beziehung zwischen Glukosestoffwechsel=
parametern und Fast Hb für Beobachtungszeiträume von 7 und 14 Tage unterstreichen die These, daß Fast Hb auch als Kurzzeitparameter anzusehen ist.

Über das hinausgehend, was von Dunn und Mitarbei=
tern (41) vertreten wird, konnte hier gezeigt wer=
den, daß der Fast Hb Wert von dem Blutzuckerniveau beeinflußt wird, das zum Zeitpunkt der Fast Hb Bestimmung vorherrscht.

Die statistisch schwach signifikante Korrelation

zwischen den über 21 Tage gemittelten Werten des Nüchternblutzuckers und dem am Ende des Zeitraumes gemessenen Fast Hb ist hier noch zu erwähnen. Man könnte daraus ableiten, daß zu den Eigenschaften als Kurzzeitparameter noch die Abhängigkeit des Fast Hb von längerfristig vorherrschenden Blutzuckerkonzentrationen kommt. Dies würde auch der Theorie von Spicer und Mitarbeitern (118) entsprechen, wonach der Hb A_1 Spiegel mit einer zeitlichen Verzögerung von ca. 2 bis 4 Wochen reagiert. Auffallend ist jedoch in den vorliegenden Untersuchungen, daß nur der Nüchternblutzucker, nicht aber die anderen Stoffwechselparameter mit Fast Hb über 21 Tage korrelieren.

Ungeachtet der Frage, ob Fast Hb ein Langzeitparameter der diabetischen Stoffwechsellage ist, steht die kurzfristige Beeinflußbarkeit des mit dem Isolab^R - Mikrosäulentestsystem gemessenen Fast Hb durch Änderungen des Glukosestoffwechsels im Vordergrund der Diskussion. Kurzfristiges Ansprechen des Fast Hb Wertes konnte auch durch Verlaufsbeobachtungen bei 5 Patienten während eines 14 - tägigen stationären Aufenthaltes bestätigt werden. Auf eine Normalisierung des Glukosestoffwechsels mit Hilfe von Insulin nach vorangegangener Verschlechterung bzw. Entgleisung des Stoffwechsel reagierte der Fast Hb Wert mit einer signifikanten Änderung innerhalb von 6 bis 7 Tagen.

Bolli und Mitarbeiter (12) registrierten bei Patienten mit schlechter Stoffwechseleinstellung 10 Tage nach Beginn der Insulintherapie einen signifikanten Abfall des Fast Hb unter Verwendung des Isolab^R-

Mikrosäulentestsystems.Bei einer anderen Patientengruppe, deren Stoffwechsel mittels Biostator-Therapie stabilisiert werden konnte, war bereits nach 3 Tagen ein signifikikantes Absinken des mit Isolab^{R} gemessenen Fast Hb zu verzeichnen (11).

Im Gegensatz dazu beobachteten Koenig und Mitarbeiter (79) einen Abfall von Hb A_{1c} erst 3 bis 4 Wochen nach verminderter Urinzuckerausscheidung. Sie bestimmten Hb A_{1c} nach der Methode von Trivelli (127). Verdeutlicht wird der Unterschied zwischen Hb A_{1c} und Hb A_1 auch durch die Arbeit von Leslie und Mitarbeitern (86). Hier konnte ein Ansteigen des Hb A_1 innerhalb von 2 Wochen nach einer akuten Verschlechterung der Stoffwechsellage nachgewiesen werden.

Bei den vorliegenden Verlaufsbeobachtungen fand sich zwischen dem 7. und 8. Tag nach stationärer Aufnahme ein Anstieg des Fast Hb. Da keinerlei Daten über die vorherige Stoffwechseleinstellung vorlagen, kann eine akut eingetretene Stoffwechselverschlechterung, etwa durch einen Infekt hervorgerufen, angenommen werden. In diesem Zusammenhang sind auch Untersuchungen von Zipper und Mitarbeitern (135) interessant, aus denen hervorgeht, daß der maximale Glukoseeinstrom in Erythrozyten bei Anwesenheit von Insulin gesteigert ist.

Trotz der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen an ambulant und stationär behandelten Diabetikern ist daß Prinzip der glykosylierten Hämoglobine als Langzeitparameter wohl durchaus wichtig und bedeutsam. Entscheidend ist neben der Wahl der Bestimmungsmethode möglicherweise auch die Präparation der Proben (98,98a). Durch die Auswahl der Methode wird

gleichzeitig die Auswahl der zu bestimmenden gly=kosylierten Hämoglobinkomponenten getroffen. Die Reaktion des mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsys=tem gemessenen Fast Hb auf kurzfristige Glukosekon=zentrationsänderungen zeigt, daß dem Fast Hb nicht nur die stabile, sondern auch die instabile Form der Glykosylierung entspricht. Instabil ist die re=versible Bindung der Glukose an das Hämoglobin in Form der Schiff´schen Base. Stabilisierung erfolgt erst durch die Umlagerung nach Amadori. Allein die stabile, d.h. irreversibel gebundene Glykosylierungs=form (46) hat Langzeitparameterqualität.

Beim Hb A_{1c} liegt die stabile Glykosylierungsform vor. Durch Hb A_{1c} - Messung, etwa mit Hilfe der von Flückiger und Winterhalter (46) beschriebenen Thiobarbiturat - Methode (TBA - Methode), wird nur der stabile Langzeitparameter erfaßt. Dieser ist durch kurzfristige Glukosekonzentrationsänderungen nicht beeinflußbar. Ein Vergleich der TBA - Methode mit dem Isolab^{R} Mikrosäulentestsystem zur Bestim=mung des Fast Hb lieferte hierzu eindeutige Er=gebnisse (117).

Es ergeben sich demnach Zweifel an der uneinge=schränkten Gültigkeit einer einzelnen Fast Hb Bestimmung für die Langzeitbeurteilung der diabe=tischen Stoffwechsellage.

5.3.2. Fettstoffwechsel und Fast Hb

Durch die enge Verknüpfung von Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel kommen Diabetes Mellitus und Hyper=

lipämie oft gemeinsam vor (14,73,130). Für die bei etwa 40 bis 50 % aller Diabetiker anzutreffende Hyperlipämie ist ein absoluter bzw. relativer Insulinmangel verantwortlich (73). Zur Beurteilung der diabetischen Stoffwechsellage ist daher auch die Untersuchung der Serumlipide heranzuziehen (72).

Bei Diabetikern liegt am häufigsten eine Hyperlipämie Typ IV vor (114). Dies entspricht einer Erhöhung der VLDL - Lipoproteine, die zu 50 % aus endogenen Triglyzeriden bestehen (96). Die HDL - Lipoproteine sind dabei erniedrigt und entstehen erst durch Abbau der VLDL - Lipoproteine (16). Hohe HDL - Cholesterinspiegel werden als Schutzfaktor gegen die koronare Herzkrankheit gewertet (7), während niedrige HDL - Werte für die Entstehung der Herzkranzgefäßerkrankungen prädisponierend sind (59). Das ist unter anderem der Grund für das 2 bis 3 fach höhere koronare Risiko der Diabetiker gegenüber den Nichtdiabetikern (59). Verbessserung der diabetischen Stoffwechsellage, sowie Verminderung der Serumlipide senken das koronare Risiko (9). Gute Einstellung der diabetischen Stoffwechsellage sollte daher gleichbedeutend sein mit hohem HDL - Cholesteringehalt und niedrigem Gehalt an glykosylierten Hämoglobinen (24).

Demzufolge war eine enge Beziehung zwischen Fast Hb Wert und HDL - Cholesterin im Serum zu erwarten. In unseren Untersuchungen konnten wir jedoch diese Beziehung nicht ermitteln. Diese Ergebnisse stimmen hierin mit den Beobachtungen von Elkeles und Mitarbeitern überein (42). Somit läßt der Fast Hb Wert kei-

nerlei Rückschlüsse auf die HDL - Cholesterinkonzentration im Serum zu.

In der gleichen Weise wurden die Beziehungen des Fast Hb zu Serumtriglyzeriden und Serumcholesterin untersucht. Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Fast Hb und Serumcholesterin, wie von Gonen und Mitarbeitern beschrieben (56), konnte dabei nicht festgestellt werden. Gonen selbst schränkt seine Ergebnisse wegen des zahlenmäßig sehr kleinen Patientengutes ein.

Hingegen zeigt sich zwischen Fast Hb und Serumtriglyzeriden, analog zu den Beobachtungen von Dobresse und Mitarbeitern (29), eine signifikante Beziehung. Auch von Peterson wurde eine sogar sehr hohe positive Korrelation zwischen beiden Parametern festgestellt. Hier wurde jedoch anstelle des Fast Hb, wie in dieser Arbeit, das Hb A_{1c} isoliert bestimmt.

Bei der Fast Hb Bestimmung mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem muß berücksichtigt werden, daß hohe Serumtriglyzeridkonzentrationen, wie bereits an anderer Stelle ausgeführt, eine Trübung des Serums verursachen und auf diese Weise die Messung der optischen Dichte des Eluats stören. Dies hat fälschlich erhöhte Fast Hb Werte zur Folge. Die positive Korrelation zwischen Fast Hb und Triglyzeriden ist somit möglicherweise nur als Artefakt anzusehen. Unterstützt wird diese Ansicht durch das niedrige Signifikanzniveau der Korrelation ($r = 0,22$; $p < 0,05$).

5.4. Glykosylierung von Hämoglobin

5.4.1. Diskussion der Versuchsanordnung

Man geht davon aus, daß der Glykosylierung von Hämoglobin eine langsame, nichtenzymatische und irreversible Reaktion zugrunde liegt (18,19,45,46, 123), die postsynthetisch stattfindet. Dies wurde am Beispiel des Hb A_{1c} nachgewiesen, wobei die eingangs beschriebenen Bestimmungsmethoden angewendet wurden.

Von diesen Hypothesen ausgehend erhebt sich die Frage, inwieweit man unter in vitro Bedingungen eine Glykosylierung innerhalb von Stunden erwarten kann,und ob sie mit dem Fast Hb - Mikrosäulentestsystem erfaßt wird. In verschiedenen Untersuchungen konnte innerhalb von Stunden bis höchstens 2 Tagen in vitro eine Glykosylierung von Hämoglobin mit verschiedenen Zuckern nachvollzogen werden (38, 45,64,119,124). Diese Ergebnisse rechtfertigen eine Versuchsanordnung mit einer Versuchsdauer von 18 Stunden. Hinzu kommt, daß bei einer Versuchsdauer von weniger als 24 Stunden die Hämolyserate nicht über 10 % hinausgeht (119).

Für die in vitro Untersuchungen wurde dem Blut diabetischer und nichtdiabetischer Probanden D- Glukose zugesetzt. Ausschlaggebend dafür waren die Ergebnisse verschiedenster Untersuchungen, in denen nachgewiesen werden konnte, daß das N-terminale Aminosäurenende der β-Ketten von Hb A mit einem Glukosemolekül besetzt ist (18,46,82). Spicer und

Mitarbeiter (119) zeigten, daß 2-Desoxyglukose (2-DG) und 3-Methylglukose (3-MG) im Gegensatz zu D-Glukose zwar zu einer 5 fach höheren Bildungsrate von $Hb A_{1c}$ führten. Der Grund dafür war jedoch in einer kompetitiven Verdrängung der Glukose vom Transportmechanismus ins Innere der Erythrozyten durch 2-DG und 3-MG zu sehen.

Zur Annäherung an physiologische Verhältnisse wurde zur Inkubation und Kontrolle der Blutproben ein auf 37°C erwärmtes, thermostatisch gesteuertes Warmwasserbad gewählt. Um eine gleichmäßige Verteilung der Glukose zu erreichen, wurden die Probenröhrchen während der gesamten Versuchsdauer automatisch geschüttelt. Zur Prüfung der Bindungsstabilität zwischen Glukose und Hämoglobin wurde 12 Stunden nach Versuchsbeginn die Glukose vollständig aus dem Inkubationsmedium entfernt. Die Vollständigkeit der Glukoseentfernung wurde durch Messung der Glukosekonzentration bzw. Nachweis von Glukosefreiheit bestätigt. Eine Hämolyse konnte zu diesem Zeitpunkt durch Bestimmung des freien Hämoglobins ausgeschlossen werden. Das Aufbewahren der Erythrozyten in einem 37°C warmen Wasserbad unter ständiger Bewegung, sowie der Waschvorgang hätten einen Störeinfluß im Versuchsablauf darstellen können. Mit Hilfe des Vorversuchs zu den in vitro Untersuchungen (Abb. 21) konnte jedoch nachgewiesen werden, daß ein solcher Störeinfluß nicht besteht. Außerdem wurden über die gesamte Inkubationsdauer Kontrollblutproben mitgeführt, die bis auf den Zusatz von D-Glukose denselben Versuchsbedingungen ausgesetzt waren wie die inkubierten Blutproben.

Generell findet die Glykosylierung von Hämoglobin sowohl im diabetischen als auch im nichtdiabetischen Organismus statt (4,125). Möglicherweise ist das Ausmaß der Reaktion unter in vitro Bedingungen bei Verwendung diabetischer und nichtdiabetischer verschieden. Um dies zu prüfen, wurden nichtdiabetische, diabetische und diabetisch - hyperlipämische Blutproben mit Glukose inkubiert. Jedesmal zeigte sich, daß das Ausmaß der Glykosylierung nicht von der Art der Probe, sondern von der zugesetzten Glukose abhängt. Zusätzlich konnte erneut dargestellt werden, inwieweit ein erhöhter Serumtriglyzeridspiegel die Messung der optischen Dichte des Eluats stört.

5.4.2. Einfluß von Glukosekonzentrationsänderungen auf das Fast Hb

Sowohl von Maquart und Mitarbeitern (89), als auch von Leutenegger und Mitarbeitern (87) werden ein deutlicher Anstieg des $Hb\,A_{1c}$ 4 Wochen nach Glukosebelastung beschrieben. Daraus ergab sich die Frage, ob der Fast Hb Wert auch innerhalb kürzerer Zeit auf die orale Glukosebelastung reagiert. Ein durchgeführter Vergleich von Fast Hb Werten, die unmittelbar vor und 2 Stunden nach oraler Glukosebelastung gemessen wurden, ließ ein signifikantes Ansteigen des Fast Hb Wertes nach OGTT nicht erkennen. Cole und Mitarbeiter (28) konnten bei ähnlichen Untersuchungen ebenfalls keine Änderungen der Werte für $Hb\,A_{1a+b}$ und $Hb\,A_{1c}$ erkennen. Zu dem hier dargestellten Versuch muß ergänzend gesagt werden, daß nur bei 4 Patienten ein Blutzuckeran-

stieg auf über 200 mg/dl 2 Stunden nach Glukose=trunk zu verzeichnen war.

Eine Untersuchung des direkten Einflusses der Glukose auf die Glykosylierungsreaktion wurde daher unter in vitro Bedingungen mit stark erhöhten Glukosekonzentrationen durchgeführt. Die durch die Inkubation mit 1000 mg/dl Glukose hervorgerufene signifikante Steigerung des Fast Hb Wertes gegen=über dem Ausgangswert innerhalb von 3 Stunden ent=spricht den Ergebnissen anderer Untersucher. Flückiger und Winterhalter (46) verzeichneten ei=nen Anstieg des Hb A_{1c} bei Inkubation mit Glukose innerhalb von 8 Stunden um 4,7 % Hb A_{1c}. Haney und Mitarbeiter (64) fanden einen gegenüber dem Ausgangswert höheren Hb A_{1c} Wert nach 5 stündiger Inkubation mit Glukose - 6 - Phosphat. Spicer und Mitarbeiter (119) beobachteten einen signifikanten Hb A_{1c} Anstieg innerhalb von 7 Stunden.

Bei allen genannten Untersuchungen war der Anstieg des Hb A_{1c} Wertes bei nichtdiabetischen Blutproben mit durchschnittlich niedrigem Hb A_{1c} ausgeprägter als bei diabetischen Blutproben mit durchschnitt=lich hohem Gehalt an Hb A_{1c}. Bei den vorliegenden Untersuchungen fand sich dagegen eine vom Basal=wert unabhängige Steigerung des Fast Hb Wertes. Die Änderung von Hb A_{1a+b+c} war bei nichtdiabe=tischen und diabetischen Blutproben gleich. Es ist vorstellbar, daß eine starke Erhöhung des Glukose=angebotes in vitro ein vorhandenes Gleichgewicht verändert. Die Folge ist ein entsprechender An=stieg des Fast Hb Wertes. Der Anstieg findet so=lange statt, bis sich zwischen Blutglukose und

Fast Hb ein neues Gleichgewicht eingestellt hat. Für diese Vorstellung spricht, daß die in vitro Reaktion mit dem Erreichen eines bestimmten Fast Hb Wertes ihr Ende findet. Hierin ist eine Parallele zu der Theorie von Graf und Mitarbeitern (61) zu sehen. Graf betrachtet die Glykosylierung von Hämoglobin in vivo als ein sättigungsfähiges System.

Die Glykosylierung ist nicht enzymabhängig (46,123). Verschiedene Untersucher gehen davon aus, das Hb A_1 durch Bindung von Fructose - 1.6 - Diphosphat und Glukose - 6 - Phosphat an die ß - Ketten des Hämoglobins gebildet wird (20,64). Dabei könnten Hb A_{1a} und Hb A_{1b}, wie bereits beschrieben, als Vorläufer des Hb A_{1c} zu sehen sein. Phosphorylierte Zuckerverbindungen werden jedoch nur als Voraussetzung für die Bildung von Hb A_{1a+b} (119), nicht aber für die Bildung von Hb A_{1c} (92) angenommen. Die Dephosphorylierung von Hb A_{1a+b} könnte einen Übergang zum Hb A_{1c} schaffen (64). Legt man dieses Modell zugrunde, so könnte die intraerythrozytäre Bereitstellung von Substraten für die Glykosylierung der ß - Ketten durch die Aktivität glykolytischer Enzyme begrenzt werden. Die Glykosylierungsreaktion wäre demnach indirekt enzymabhängig. Für diese Annahme sprechen die große Reaktionsgeschwindigkeit in den ersten Inkubationsstunden und der plateauähnliche weitere Verlauf des Fast Hb bei relativ konstanter Glukose-Konzentration (Abb. 23).

Nach Flückiger und Winterhalter (46) verläuft die Glykosylierung intraerythrozytär bis zur Formierung des Hb A_{1c} in zwei Stufen. Zuerst wird die Glukose an die ß - Kette unter Bildung eines Glykosamins gebunden, das mit

seiner Schiff´schen Base im Gleichgewicht steht. In diesem Stadium ist die Reaktion noch reversibel. Die Umlagerung im Sinne einer Amadori Konfigurati= on führt zu einer stabilen, irreversiblen 1 - ami= no - 1 - desoxy, 2 - Keto - Bindung (Abb. 1). Im vorliegenden in vitro Versuch hat die Entfernung der Glukose aus dem Inkubationsmedium ein fast lineares Absinken des Fast Hb Wertes bis zum Aus= gangspunkt innerhalb von 6 Stunden zur Folge. Der Grund hierfür dürfte darin zu sehen sein, daß die Glykosylierungsreaktion nur bis zur 1. Stufe er= folgt ist, d.h. die Glukose bzw. die glykolytischen Zwischenprodukte sind reversibel an das Hämoglo= bin gebunden. Es wäre demnach denkbar, daß Glukose und Hämoglobin während der Inkubation nur über die reversible Schiff´sche Base verbunden waren. Die Umlagerung nach Amadori in die stabile Form war noch nicht erfolgt. Deshalb sank das Fast Hb nach Entfernung der überschüssigen Glukose aus dem Inkubationsmedium auch nur soweit ab, bis alle Schiff´schen Basen entkoppelt waren. Auf diese Weise wurde der Ausgangswert des Fast Hb wieder erreicht.

Das scheinbare Unterschreiten der Basalwerte bei Verwendung diabetischer, hyperlipämischer Blutpro= ben ist darauf zurückzuführen, daß die im Vollblut gemessenen Ausgangswerte durch den hohen Serumtri= glyzeridgehalt fälschlich zu hoch erscheinen. Die wahren Fast Hb Ausgangswerte sind in den Kontroll= blutproben zu erkennen, die zu Beginn des Versuchs mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen wur= den. Daran und am Verlauf des Fast Hb Wertes in den mit Glukose inkubierten Blutproben ist erkenn=

bar, daß der hohe Serumtriglyzeridspiegel nicht die Glykosylierungsreaktion beeinflußt, sondern die Messung der optischen Dichte in der schon beschriebenen Weise stört.

Grundsätzlich wäre es denkbar, daß die Änderung des Fast Hb Wertes auf Artefakte zurückzuführen ist. In diesem Fall wäre jedoch ein abrupter Abfall der Werte nach Glukoseentfernung zu erwarten und nicht die beobachtete lineare Annäherung an den Ausgangswert innerhalb von 6 Stunden.

Auch die Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch bakterielle Verunreinigung ist unwahrscheinlich, weil eine Konstanz der Fast Hb Werte in den Kontrollblutproben gezeigt werden konnte. Die Tatsache, daß sowohl die Aufbewahrung der Proben im 37 °C warmen Wasserbad, als auch das Waschen der Erythrozyten keinen Einfluß auf den Fast Hb Wert haben, zeigt, daß die Änderung der Werte kausal auf die starke Erhöhung der Glukosekonzentration zurückzuführen ist.

Davon ausgehend, daß das verwendete Mikrosäulentestsystem ausschließlich die Konzentration von $Hb\,A_{1a+b+c}$ als Fast Hb erfaßt, wäre der Anstieg und Abfall des Fast Hb Wertes als Ergebnis einer reversiblen Glykosylierungsreaktion zu werten, wie sie auch von Svendsen und Mitarbeitern (124) beschrieben wurde.

Unter der Glykosylierung wird im Allgemeinen jedoch nur die irreversible Bindung der Glukose an das Hämoglobin verstanden, wie dies beim $Hb\,A_{1c}$

der Fall ist. Reversible Bindung der Glyko-Anteile an das Hämoglobin in Form einer Schiff´schen Base führt zu einer labilen Glyko-Hb Form, die nicht die Eigenschaften der stabilen Glykosylierungsform besitzt. Es kann, wie in diesem Versuch deutlich gezeigt wurde, nicht ausgeschlossen werden, daß mit dem Isolab^{R} Mikrosäulentestsystem zur Bestimmung des Fast Hb außer den stabilen Glykosylierungsprodukten andere Reaktionsprodukte miterfaßt werden, die unstabil sind, aber Stabilität vortäuschen. Die Beeinträchtigung der Langzeitparameterqualität des Fast Hb durch das Nebeneinander von labiler und stabiler Glyco-Hb Form könnte möglicherweise durch besondere Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials zumindest teilweise aufgehoben werden. Durch Inkubation der Blutproben in glukosefreien Medien (124a) über 6 Stunden oder im sauren Milieu bei PH 5 (98, 98a) sollen die stabilen Glyco-Anteile von den instabilen getrennt werden. Der Einfluß kurzfristiger Konzentrationsänderungen der Blutglukose auf das Fast Hb Niveau könnte auf diese Weise ausgeschaltet oder reduziert werden.

In den kurzfristigen Glukosekonzentrationsänderungen ist nach den bisher vorliegenden Arbeiten die Schwachstelle des Fast Hb Systems zu sehen. Zusätzlich zu der Problematik der instabilen und stabilen Glykosylierungsform wird von Welch die Ansicht vertreten, daß in solchen Fällen ein Produkt entsteht, das nicht identisch ist mit Hb A_1, jedoch gleichzeitig mit der Hb A_1 Fraktion, also Fast Hb, chromatographisch eluiert wird.

6. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit prüft das Isolab^{R} - Mikro=säulentestsystem zur Bestimmung des Fast Hb an Hand von Kriterien, die für klinisch - chemische Verfahren obligatorisch sind. Außerdem wird der Einsatz des Fast Hb als Screening - Methode für die Diagnostik des Diabetes Mellitus untersucht. Die Frage nach der Eignung des Fast Hb als Lang=zeitparameter für die Beurteilung der diabetischen Stoffwechsellage wird durch Untersuchungen in vivo und in vitro beantwortet.

Die kontinuierlich in jedem menschlichen Organ=nismus stattfindende Reaktion zwischen Hämoglobin und Glukose führt zur Bildung der Glyko - Hämo=globinformation. Der Glyko - Anteil ist zunächst reversibel in Form einer Schiff´schen Base an das Hämoglobin gebunden. Durch die Umlagerung nach Amadori entsteht jedoch eine irreversible, stabile Bindung. Das so gebildete glykosylierte Hämoglobin ist bis zum Ende der erythrozytären Lebensdauer in den roten Blutkörperchen vorhanden. Die dia=betisch bedingte Hyperglykämie führt zu einer über das normale Niveau hinausgehenden Glykosy=lierungsrate. Diese Erkenntnis führte das glyko=sylierte Hämoglobin in die Diagnostik und Stoff=wechselkontrolle des Diabetes Mellitus ein. Mitt=lerweile sind mehrere Untergruppen des glykosy=lierten Hämoglobins bekannt, die mit Hilfe unter=schiedlicher Bestimmungsverfahren sowohl getrennt, als $Hb\,A_{1a}$, $Hb\,A_{1b}$ und $Hb\,A_{1c}$, als auch ge=schlossen als $Hb\,A_{1}$ oder Fast Hb dargestellt wer=den können. Das Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem bestimmt die glykosylierten Hämoglobinkomponen=ten $Hb\,A_{1a+b+c}$ als Fast Hb.

Der erste experimentelle Teil dieser Arbeit befaßte sich mit der Anwendbarkeit des Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystems im Routinelabor. Das Antikoagulieren der Blutproben ist mit Hilfe von K^{+} -EDTA möglich. Es wird gezeigt, daß die auf diese Weise antikoagulierten Proben mit ihren Fast Hb Werten nur um 0,04 % über den nichtantikoagulierten Proben liegen. Die Haltbarkeit der Blutproben ist bei einer Lagertemperatur von +2° C auf 4 Tage und bei einer Lagertemperatur von - 18 ° auf 7 Tage begrenzt. Der zum Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem angebotene Standard kann 4 Tage verwendet werden. Ein Vergleich der mit Isolab^{R} (Methode 1) gemessenen Fast Hb Werte und der mit Bio Rad^{R} bestimmten Hb A_1 Werte ergibt, daß die Bio Rad^{R} Werte um 10,5 % höher liegen. Zwischen beiden Methoden findet sich eine hohe Korrelation. Ein Intra - Assay Variationskoeffizient von $\pm$ 3,8 % gewährleistet eine gute Reproduzierbarkeit der mit Isolab^{R} gemessenen Testergebnisse. Hyperlipämie beeinträchtigt die Messung der optischen Dichte und verfälscht so den tatsächlichen Fast Hb Wert. Daher ist eine Aufbereitung hyperlipämischer Blutproben durch Waschen unbedingt erforderlich.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß das Isolab^{R} Mikrosäulentestsystem zur Bestimmung des Fast Hb von seiner Methodik her für Routineuntersuchungen geeignet ist.

Die Eignung der Fast Hb Bestimmung als Screening - Methode der Diagnostik des Diabetes Mellitus wurde

an den Ergebnissen des oralen Glukosetoleranztests gemessen. Während bei der Glukosebelastung 52,5 % der untersuchten 143 adipösen Patienten eine Glukosetoleranzstörung mit 2-h OGTT Werten über 120mg/dl 23,1 % sogar über 140 mg/dl, aufwiesen, lag der Fast Hb nur bei 5,6 % der Patienten oberhalb der pathologischen Grenze. Hingegen wurde bei 6 Patienten mit normalem Ausfall der oralen Glukosebelastung ein pathologisches Fast Hb beobachtet. Diese Werte sprechen dagegen, das mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem gemessene Fast Hb in der Früherfassung des Diabetes Mellitus einzusetzen.

Zur Beurteilung des Fast Hb als Langzeitparameter der diabetischen Stoffwechsellage wurde bei 47 ambulant und 102 stationär behandelten Diabetikern das Fast Hb über Zeiträume von 1 bis 21 Tagen mit den Kurzzeitparametern des Kohlenhydrat-und Fettstoffwechsels in Beziehung gesetzt. Eine positive Korrelation, wie sie zwischen Fast Hb und dem Serumtriglyzeridspiegel bei einem eintägigen Beobachtungszeitraum gefunden wurde, ist am ehesten als artifiziell anzusehen. Zwischen Fast Hb und Serumcholesterin, sowie HDL - Cholesterin konnte keine Relation nachgewiesen werden. Entgegen den Erwartungen korrelierte das Fast Hb um so besser mit den Kurzzeitparametern des Kohlenhydratstoffwechsels, je kürzer der Beobachtungszeitraum war. Dieses Ergebnis läßt Zweifel an der Bedeutung des Fast Hb als Langzeitparameter aufkommen. Fast Hb, gemessen mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem, scheint durch kurzfristige Glukosekonzentrationsschwankungen beeinflußbar zu sein. Dies wird auch am Beispiel von 5 mit Insulin behandelten Diabetikern demonstriert.

Die Patienten wurden wegen akuter Stoffwechselentgleisung behandelt. Dabei reagierte das Fast Hb auf starken Konzentrationsabfall von Blutglukose signifikant innerhalb von 6 bis 7 Tagen.
Die Beeinflußbarkeit des Fast Hb, gemessen mit Isolab^{R}, durch Änderungen der Glukosekonzentration wurde ebenfalls mit Hilfe von in vitro Untersuchungen nachgewiesen. Dabei reagierten diabetische und nichtdiabetische Blutproben während Inkubation mit 1000 mg/dl D-Glukose über 18 Stunden mit einem signifikanten Fast Hb Anstieg. Nach völliger Entfernung der Glukose aus dem Inkubationsmedium sank das Fast Hb innerhalb von 6 Stunden wieder auf den Ausgangswert. Hier wird besonders die kurzfristige Beeinflußbarkeit des mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem gemessenen Fast Hb sichtbar.

Die Wertigkeit des mit Isolab^{R} gemessenen Fast Hb als Langzeitparameter für die Kontrolle und die Beurteilung der diabetischen Stoffwechsellage erscheint somit fraglich. Das schnelle Ansprechen des Fast Hb auf kurzfristige Änderungen der Blutglukosekonzentration und die engen Beziehungen zu den Stoffwechselparametern, die über 2 Tage vor der Fast Hb Bestimmung bzw. sogar am gleichen Tag gemessen wurden, lassen nur den Schluß zu, daß das Fast Hb, bestimmt mit dem Isolab^{R} - Mikrosäulentestsystem, auch Eigenschaften eines Kurzzeitparameters, vergleichbar der Nüchternblutzucker- oder Glukosurie-bestimmung, besitzt. Durch diese Überlagerung wird die Langzeitparametereigenschaft eingeschränkt. Daher kann das Fast Hb nur nach Ausschaltung der instabilen Glykosylierungsform und alleiniger Darstellung der stabilen Glyco - Hb Form als Langzeitparameter gelten.

7. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

7.1. Verzeichnis der Tabellen

Tab. 1	Postsynthetische Struktur=veränderungen des Hämoglobins	Seite 11
Tab. 2	Einfluß von K^+-EDTA auf den Fast Hb Wert und die Streu=ung der Testergebnisse	Seite 52
Tab. 3	Intra-Assay Variationsko=effizient des Isolab^R-Mikro=säulentestsystems	Seite 53
Tab. 4	Inter-Assay Variationsko=effizient des Isolab^R-Mikro=säulentestsystems	Seite 54
Tab. 5	Ausschaltung von Störein=flüssen durch Waschen der Erythrozyten	Seite 55
Tab. 6	Vergleich der Methoden Bio Rad^R und Isolab^R 1	Seite 56
Tab. 7	Vergleich der Methoden Bio Rad^R und Isolab^R 2	Seite 58
Tab. 8	Vergleich der Methoden Isolab^R 1 und Isolab^R 2	Seite 59
Tab. 9	Fast Hb und OGTT bei 143 übergewichtigen Patienten	Seite 63

Tab. 10 Vergleichende Darstellung von 2-h OGTT Wert und Fast Hb bei 143 Patienten Seite 69

Tab. 11 Kohlenhydrat- und Fettstoff=wechselparameter, sowie Fast Hb bei 46 ambulant be=handelten Diabetikern Seite 72

Tab. 12 Kohlenhydrat- und Fettstoff=wechselparameter, sowie Fast Hb bei 102 stationär behandelten Diabetikern bei Beobachtung über 2 Tage Seite 76

Tab. 13 Kohlenhydratstoffwechsel=parameter und Fast Hb bei 66 stationär behandelten Diabetikern bei Beobach=tung über 7 Tage Seite 80

Tab. 14 Kohlenhydratstoffwechsel=parameter und Fast Hb bei 33 stationär behandelten Diabetikern bei Beobach=tung über 14 Tage Seite 83

Tab. 15 Kohlenhydratstoffwechsel=parameter und Fast Hb bei 18 stationär behandelten Diabetikern bei Beobach=tung über 21 Tage Seite 85

Tab. 16 Fast Hb während Inkubation nichtdiabetischer Blutpro= ben mit 1000 mg/dl Glukose Seite 91

Tab. 17 Fast Hb nach Entfernung der Glukose durch Auswaschen der inkubierten Proben Seite 92

Tab. 18 Fast Hb in der Kontrollblut= reihe I-III-K Seite 92

Tab. 19 Fast Hb in den Kontrollblut= reihen I-III-K-B Seite 93

Tab. 20 Fast Hb während Inkubation diabetischer Blutproben mit 1000 mg/dl Glukose Seite 94

Tab. 21 Fast Hb nach Entfernung der Glukose durch Auswaschen der inkubierten Proben Seite 94

Tab. 22 Fast Hb in den Kontrollblut= reihen IV-VI-K und VII-IX-K Seite 95

Tab. 23 Fast Hb in den Kontrollblut= reihen IV-IX-K-A Seite 95

Tab. 24 Fast Hb in den Kontrollblut= reihen IV-IX-K-B Seite 96

Tab. 25 Fast Hb während Inkubation diabetischer, hyperlipä= mischer Blutproben mit 1000 mg/dl Glukose Seite 97

Tab. 26 Fast Hb nach Entfernung der Glukose durch Auswaschen der inkubierten Proben Seite 97

Tab. 27 Fast Hb in den Kontrollblut= reihen X-XII-K Seite 98

Tab. 28 Fast Hb in den Kontrollblut= reihen X-XII-K-A Seite 98

Tab. 29 Fast Hb in den Kontrollblut= reihen X-XII-K-B Seite 99

Tab. 30 Vergleich der Fast Hb Werte bei 23 Patienten vor bzw. nach einer oralen Glukose= belastung (OGTT) seite 103

Tab.31 Zusammenfassung der Werte für OGTT und Fast Hb ent= sprechend dem Ausfall des OGTT Seite 104

7.2. Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1	Synthese von Hb A_{1c} und nachfolgende Umlagerung nach Amadori	Seite 9
Abb. 2	Kovalente Bindungsorte und elektrostatische Inter=aktion zwischen G-6-P und Desoxyhämoglobin	Seite 11
Abb. 3	Kohlenhydratstoffwechsel und Fast Hb bei stationär behandelten Diabetikern	Seite 39
Abb. 4	Schema der in vitro Unter=suchungen	Seite 44
Abb. 5	Vergleich der Methoden Bio Rad^R und Isolab^R 1	Seite 57
Abb. 6	Vergleich der Methoden Bio Rad^R und Isolab^R 2	Seite 58
Abb. 7	Vergleich der Methoden Isolab^R 1 und Isolab^R 2	Seite 60
Abb. 8	Beziehung zwischen Fast Hb und OGTT	Seite 70
Abb. 9	Beziehung zwischen Fast Hb und Serumtriglyzeriden	Seite 71

Abb. 10 Beziehung zwischen Fast Hb und PPBZ bzw. G bei 46 ambulant behandelten Diabetikern Seite 74

Abb. 11 Beziehung zwischen Fast Hb und NBZ bzw. PPBZ bei stationär behandelten Diabetikern Seite 75

Abb. 12 Beziehung zwischen Fast Hb und MBZ bzw. G bei stationär behandelten Diabetikern Seite 75

Abb. 13 Beziehung zwischen Fast Hb und Serumtriglyzeriden bei 129 stationär behandelten Diabetikern Seite 86

Abb. 14 Verlauf von Fast Hb und G bei 5 Diabetikern während 14 Tagen Seite 87

Abb. 15 Verlauf von Fast Hb und NBZ bei 5 Diabetikern während 14 Tagen Seite 88

Abb. 16 Verlauf von Fast Hb und PPBZ bei 5 Diabetikern während 14 Tagen Seite 88

Abb. 17 Verlauf von Fast Hb und MBZ bei 5 Diabetikern während 14 Tagen Seite 89

Abb. 18 Vorversuch zu den in vitro Untersuchungen Seite 90

Abb. 19 Fast Hb Verlauf in nicht=diabetischen Blutproben während Inkubation mit 1000 mg/dl Glukose Seite 100

Abb. 20 Fast Hb Verlauf in diabe=tischen Blutproben während Inkubation mit 1000 mg/dl Glukose Seite 101

Abb. 21 Fast Hb Verlauf in diabe=tischen, hyperlipämischen Blutproben während Inkubation mit 1000 mg/dl Glukose Seite 101

Abb. 22 Fast Hb Verlauf in 3 nicht=diabetischen und 6 diabe=tischen, normolipämischen Blutproben während Inkubation mit 1000 mg/dl Glukose Seite 102

Abb. 23 Glukosekonzentration wäh=rend der Inkubation und im Kontrollblut Seite 102

Abb. 24 Beeinflussung von Fast Hb durch OGTT Seite 105

Abb. 25 Abhängigkeit des Fast Hb von der Umgebungstemperatur Seite 112

8. Literaturverzeichnis

1 Abraham, E.C.; Huff, T.A.; Cope, N.D.; Wilson jr., J. Bransome jr., E.D.; Huisman, T.H.J.;

Determination of the Glykosylated Hemoglobins ($Hb A_1$) with a New Microcolumn procedure

Diabetes 27; 931 - 937, 1978

2 Alberti, K.G.M.M.; Darley, J.H.; Emerson, P.M.; Hockaday, T.D.R.;

2.3-Diphosphoglycerate and Tissue oxygenation in uncontrolled Diabetes Mellitus

Lancet; 391, 26.Aug. 1972

3 Aleyassine, H.;

Low proportions of glycosylated hemoglobin associated with hemoglobin S and hemoglobin C

Clin.Chem. 25; 1484, 1979

4. Allan, D.W.; Schroeder, W.A.; Balog, J.;

Observations on the chromatographic heterogenity of normal adult and fetal human hemoglobin

J.Am.Chem.Soz. 80; 1628, 1958

5. Arnone, A.;

X-ray diffraction study of binding of 2.3.-diphosphoglycerate to human deoxyhaemo= globin

Nature 237; 146 - 149, 19.May 1972

6 Beisswenger, P.J.; Spiro, R.G.;

Studies on the human glomerular basement membrane Composition, nature of the carbohydrate units and chemical changes in diabetes mellitus

Diabetes 22; 181, 1973

7 Berchthold, P.; Berger, M.;

HDL-Cholesterin, ein Schutzfaktor gegen die koronare Herzkrankheit

DMW 103; 1537, 1978

8 Berger, M.; Baumhoff, E.; Gries, F.A.;

Gewichtsreduktion und Glukoseintoleranz bei Adipositas - eine Verlaufsstudie über 5 Jahre

DMW 101; 309, 1976

9 Berger, M.; Berchthold, P.; Zimmermann, H.;

Butter oder Margarine

DMW 105; 1297, 1980

10 Berger, W.; Sonnenberg, G.E.;

Blutzuckertagesprofile und Hämoglobin A_1 bzw. Hb A_{1c} zur Überwachung der Diabetesbehandlung

Schweiz.med.Wschr. 110; 485 - 491, 1980

11 Bolli, G.; Campagnucci, P.; Cartechini, M.G.; Panara, F.; Cirotto, C.; Brunetti, P.;

Effekt of insulin treatment on glykosylated hemoglobin levels in diabetes mellitus

IRCS Med.Sci. 6; 366, 1978

12 Bolli, G.; Cartechini, M.G.; Compagnucci, P.; Santeusanio, F.; Massi-Benetti, M.; Calabrese, G.; Puxeddu, A.; Brunetti, P.;

Modifikation of glycosylated hemoglobin concen= tration during artificial endocrine pankreas treatment of diabetics
Evidence for a short-trem effect on Hb A_{1a+b+c} levels

Diabetologia 18; 125, 1980

13 Bookchin, R.M.; Gallop, P.M.;

Structure of hemoglobin A_{1c} : nature of the N-terminal ß-chain blocking group

Biochem.Biophys.Res.Commun. 32; 86, 1968

14 Bradley, R.F.;

Cardiovascular disease
in Joslin´s Diabetes Mellitus
Philadelphia 1971 , 11. Ausgabe

15 Bucher, O.;

Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie

Bern, Stuttgart, Wien 1973 , 8. Auflage

16 Buddecke, E.;

Grundriß der Biochemie

Berlin 1977 , 5. Auflage

17 Bunn, H.F.; Briehl, R.W.;

The interaction of 2.3-diphosphoglycerate with various human hemoglobins

J.Clin.Invest. 49; 1088, 1970

18 Bunn, H.F.; Haney, D.N.; Gabbay, K.H.; Gallop, P.M.;

Further identifications of the nature and linkage of the carbohydrate in hemoglobin A_{1c}

Biochem.Biophys.Res.Commun. 67; 103, 1975

19 Bunn, H.F.; Haney, D.N.; Kamin, St.; Gabbay, K.H.; Gallop, P.M.;

The biosynthesis of human hemoglobin A_{1c}

J.Clin.Invest. 57;1652, 1976

20 Bunn, H.F.; Gabbay, K.H.; Gallop, P.M.;

The glycosylation of hemoglobin, relevance to diabetes mellitus

Science 200; 21, 1978

21 Burnstein, M.; Scholnick, H.R.; Morfin, R.;

Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions

Lipid Res. 11; 583, 1970

22 Cahill, G.F.jr.; Etzwiler, D.D.; Freinkel, N.;

" Control" and diabetes

N.Engl.J.Med. 294; 1004, 1976

23 Cahill, G.F.jr.; Etzwiler, D.D.; Freinkel; N.;

Blood glukose control in diabetes

Diabetes 25; 237 - 239, 1976

24 Calvert, G.D.; Mannik, T.; Graham, J.J.; Yeates, R.A.;

Effects of therapy on plasma high density lipoprotein cholesterol concentration in diabetes mellitus

Lancet 2; 66, 1978

25 Casparie, A.F.; Miedema, K.;

Hb A_{1c} in comparison with other parameters as index of diabetic control

Neth.J.Med. 21; 73, 1978

26 Clarke, J.T.; Canivet, J.;

Hemoglobin A_{1c} : Separation by micro-column chromatography
A new rapid method of assay

Diabete & Metabolisme (Paris) 5; 293, 1979

27 Clegg, M.D.; Schroeder, W.A.;

A chromatographic study of the minor components of normal adult human hemoglobin including a comparison of hemoglobin from normal and phenyl= ketonuric individuals

Am.J.Chem.Soc. 81; 6065, 1959

28 Cole, R.A.; Soeldner, J.S.; Dunn, P.J.; Bunn, H.F.;

A rapid method for the determination of glycosylated hemoglobins using high pressure liquid chromatography

Metabolism 27; 289, 1978

29 Daubresse, J.C.; Lemy, C.; Bailly, A.; Meunier, J.C.;

The usefullness of a rapid method for total fast hemoglobins determination in screening for diabetes control

Diabete & Metabolism (Paris) 5; 301, 1979

30 Davis, J.E.; McDonnald, J.M.; Jarett, L.;

A high performance liquid chromatography method for Hemoglobin A_{1c}

Diabetes 27; 102, 1979

31 Davis, R.E.; Nicol, D.J.; McCann, V.J.; Calder, J.S.;

Glycosylated hemoglobin levels in patients with diabetes mellitus

Med.J.Aust. 1; 530, 1978

32 Diem, K.;

Wissenschaftliche Tabellen
Documenta Geigy

Stuttgart 1975 , 7. Ausgabe

33 Ditzel, J.; Dyerberg, J.;

Hyperlipoproteinemia, diabetes and oxygen affinity of hemoglobin

Metabolism 26; 141, 1977

34 Ditzel, J.;

Diabetic vascular disease

Acta Paediatr. Scand. Suppl. 270; 112, 1977

35 Ditzel, J.; Nielsen, N.V.; Berg, O.;

Hemoglobin A_{1c} concentrations in subjects with normal and borderline glucose tolerances

Acta endocrin. 88; Nr.23; 1978

36 Ditzel, J.; Kjaergard, J.J.;

Hemoglobin A_{1c} concentrations after initial insulin treatment for newly discovered diabetes

Br.Med.J. 1; 741, 1978

37 Dixon, H.B.F.;

A reaction of glucose with peptides

Biochem.J. 129; 203, 1972

38 Dolhofer, R. ; Wieland, O.H.;

In vitro glycosylation of hemoglobins by different sugars and sugar phosphates

FEBS Letters 85; 86, 1978

39 Dolhofer, R.; Wieland, O.H.;

Preparation an biological properties of glycosylated insulin

FEBS Letters 100; 133 -136, 1979

40 Dolhofer, R.; Wieland, O.H.;

Increased glycosylation of serum albumin in diabetes mellitus

Diabetes 29; 417 - 422, 1980

41 Dunn, P.J.; Cole, R.A.; Soeldner, J.S.; Gleason, R.E.; Kwa, E.; Firoozabachi, H.; Younger, C.A.; Graham, C.A.;

Temporal relationship of glycosylated hemoglobin concentrations to glucose control in diabetics

Diabetologia 17; 213, 1979

42 Elkeles, R.S.; Wu, J.; Hambley, J.;

Haemoglobin A_1, blood glucose and high-density lipoprotein cholesterol in insulin requiring diabetics

Lancet 2; 547, 1978

43 Ellenberg, M.;

Chronic complications of diabetes mellitus

New York State J.Med. 78; 2214, 1978

44 Engelhardt, A.;

Die Diagnostik des Diabetes Mellitus
in K.Oberdisse (Hersg.)
Handbuch der Inneren Medizin

Berlin, Heidelberg, New York 1975 , 5. Auflage

45 Fitzgibbons, J.F.; Koler, R.D.; Jones, R.T.;

Red cell age-related changes of hemoglobins A_{1a+b} and A_{1c} in normal and diabetic subjects

J.Clin.Invest. 58; 820, 1976

46 Flückiger, R.; Winterhalter, K.H.;

In vitro synthesis of hemoglobin A_{1c}

FEBS Letters 71; 356, 1976

47 Flückiger, R.; Winterhalter, K.H.;

Chemical nature of hemoglobin A_{1c}

The minor hemoglobin massively increased
in diabetes mellitus

48 Flückiger, R.; Berger, W.; Winterhalter, K.H.;

Hemoglobin A_{1c}, a reliable index of diabetic control

Diabetologia 13; 333, 1977

49 Förster, H.;

Zur Diagnostik diabetischer Vorstadien

Klinikarzt 6; 915, 1977

50 Fraser, D.M.; Smith, A.F.; Gray, R.S.;
Borsey, D.Q.; Sinclair, M.E.; Clarke, B.F.;

Glycosylated haemoglobin concentrations in newly diagnosed diabetics before and during treatment

Br.Med.J. 1; 979, 1979

51 Gabbay, K.H.;

Glycosylated hemoglobin and diabetic control

N.Engl.J.Med. 295; 443, 1976

52 Gabbay, K.H.; Hasty, K.; Breslaw, J.L.;
Ellison, R.C.; Bunn, H.F.; Gallop, P.M.;

Glycosylated hemoglobins and long term blood glucose control in diabetes mellitus

J.Endocrinol.Metab. 44; 859, 1977

53 Gabbay, K.H.; O´Sullivan, J.B.;

The sorbitol pathway
Enzyme location and content in normal and diabetic nerve and cord

Diabetes 17; 239, 1978

54 Gale, E.A.M.; Walford, S.; Tattersall, R.B.;

Nocturnal hypoglycemia and Hemoglobin A_1

Lancet 2; 1240, 1979

55 Gandhi, V.S.; Bleicher, S.J.;

Formation in vitro of "Fast" (Hb A_{1c}) Hemoglobin

Diabetes 25; 335, 1976

56 Gonen, B.; Rubenstein, A.H.; Rochman, H.; Tanega, S.P.; Horwitz, D.L.;

Haemoglobin A_1 : an indicator of the metabolic control of diabetic patients

Lancet 2; 734, 1977

57 Gonen, B.; Rubenstein, A.H.;

Glycosylated hemoglobins in diabetes : a reapraisal

Diabetes Care 2; 451, 1979

58 Goodkin, G.;

Mortality factors in diabetes, a 20 year mortality study

J.occup.Med. 17; 716, 1975

59 Gordon, T.; Castelli, W.P.; Hjortland, M.C.; Kannel, W.B.; Dawber, T.R.;

High density lipoprotein as a protective factor against coranary heart disease The Framingham Study

Am.J.Med. 62; 707, 1977

60 Graf, R.J.; Porte, D.;

Glycosylated hemoglobin (GHb) as an index of glycemia independent of plasma insulin (IRI) in normal and diabetic subjects

Diabetes 26; 368, 1977

61 Graf, R.J.; Halter, J.B.; Porte, D.;

Glycosylated hemoglobin in normal subjects and subjects with maturity onset diabetes Evidence for a saturable system in man

Diabetes 27; 834, 1978

62 Graham, J.J.; Ryall, R.G.; Wise, P.H.;

Glycosylated haemoglobin and relative polycythaemia in diabetes mellitus

Diabetologia 18; 205, 1980

63 Gries, F.A.; Berchtold , P.; Berger, M.;

Adipositas

Berlin, Heidelberg, New York 1976

64 Haney, D.N.; Bunn, H.F.;

Glycosylation of hemoglobin in vitro : affinity labeling of hemoglobin by glucose-6-phosphate

Proc.Natl.Acad.Sci.USA 73; 3534, 1976

65 Heinze, E.; Kohne, E.; Meissner, C.; Beischer, W.; Teller, W.M.; Kleihauer, E.;

Hemoglobin A_{1c} ($Hb A_{1c}$) in children with long standing and newly diagnosed diabetes mellitus

Acta. Paediatr. Scand. 68; 609, 1979

66 Holmquist, W.R.; Schroeder, W.A.;

Properties and characterization of adult human hemoglobin A_{1c}

Biochim.Biophys.Acta 82; 639, 1964

67 Holmquist, W.R.; Schroeder, W.A.;

A new N-terminal blocking group involving a Schiff base in hemoglobin A_{1c}

Biochemistry 5; 2489, 1966

68 Huisman, T.H.J.; Dozy, A.M.;

Studies on the heterogenity of hemoglobin V. Binding of the hemoglobin with oxidized gluthatione

J.Lab.Med. 60; 302; 1962

69 Huisman, T.H.J.; Horton, B.F.;

Studies on the heterogenity of hemoglobin VII. Chromatographic and elektrophoretic investigations of various minor hemoglobin fractions present in normal and in vitro modified red blood cell hemolysates

J.Chromatog. 18; 116, 1965

70 Irmscher, K.;

Diabetische Nierenerkrankungen

Klinikarzt 7; 58, 1978

71 Jackson, W.P.U.; Vinic, A.J.

Diabetes Mellitus

London 1977

72 Jahnke, K.; Miss, H.D.; Drost, H.;
Kriterien und Bewertung der Diabeteseinstellung
DMW 99; 870, 1974

73 Jahnke, K;
Fettstoffwechselstörung bei Diabetes Mellitus
Pharmakotherapie 3; 218 - 227, 1980

73a Javid, J.; Pettis, P:; Koenig, R.J.; Cerami, A.;
Immunologic characterization and quantifikation of haemoglobin A_{1c}
Br.J.Haematol. 38; 329 - 337, 1978

74 Kannel, W.B.; McGee, D.L.;
Diabetes and cardiovascular risk faktors
The Framingham Study
Circulation 59; 8, 1979

75 Karamanos, B.; Christacopoulos; P.;
Zachariou, N.; Korkolis, S.;
Rapid changes of the haemoglobin A_{1c} ($Hb A_{1c}$) fraction following alterations of diabetic control
Diabetologia 13; 406, 1977

76 Kjaergard, J.J.; Ditzel, J.;
Hemoglobin A_{1c} as an Index of long-term blood glucose regulation in diabetic pregnancy
Diabetes 28; 694, 1979

77 Klujber; L.; Soltész, G.U.; Jászai, V.;
Molnár, D.; Kardos, M.; Mestyán, J.;
Glycosylated haemoglobin and HDL - cholesterol in diabetic children
Acta Medica Sci. Hung. 36; 348, 1979

78 Koenig, R.J.; Cerami, A.;

Synthesis of Hemoglobin A_{1c} in normal and diabetic mice : Potential model of basement membrane thickening

Proc.Natl.Acad.Sci.USA 72; 3687, 1975

79 Koenig, R.J.; Peterson, Ch. M.; Jones, R.L.; Saudek, Ch.; Lehrman, M.; Cerami, A.;

Correlation of glucose regulation and hemoglobin A_{1c} in diabetes mellitus

N.Engl.J.Med. 295; 417, 1976

80 Koenig, R.J.; Arango, D.C.; Cerami, A.;

Increased Hemoglobin A_{1c} in mice

Diabetes 25; 1, 1976

81 Koenig, R.J.; Peterson, Ch.; Kilo, Ch.; Cerami, A.; Williamson, J.R.;

Hemoglobin A_{1c} as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes

Diabetes 25; 230, 1976

82 Koenig, R.J.; Blobstein, S.H.; Cerami, A.;

Structure of the carbohydrate of Hemoglobin A_{1c}

J.Biol:Chem. 252; 2992, 1977

83 Kutter, D.;

Applications du dosages des hémoglobins "rapides" âla surveilance et au diagnostic du diabête sucré

Schweiz.med.Wschr. 109; 1107, 1979

84 Kynoch, P.A.M.; Lehmann, H.;

Rapid estimation (2,5 Hours) of glycosylated haemoglobin for routine purposes

Lancet 2; 16, 1977

85 Lanoe, R.; Thibult, N.; Eschwege, E.; Soria, C.; Soria, J.; Tchoibroutsky, G.;

Glycosylated haemoglobin concentrations and clinitest results in insulin dependent diabetes

Lancet 2; 1156, 1977

86 Leslie, R.D.G.; Pyke, D.A.; John, P.N.; White, J.M.;

How quickly can haemoglobin A_1 increase ?

Br.Med.J. 2; 19, 1979

87 Leutenegger, M.; Marquart, F.X.; Broel, J.P.; Poynard, J.P.; Malgrange, D.; Couchot, J.;

Hb A_{1c} and diabetes mellitus
a static and kinetic study

Diabetologia 15; 250, 1978

88 Lopes - Virella, M.F.; Stone, P.; Ellis, S.; Colwell, J.A.;

Cholesterol determination in high density lipoproteins separated by three different methods

Clin.Chem. 23; 882, 1977

89 Marquart, F.X.; Poynard, J.P.; Broel, J.P.; Leutenegger, M.;

Evolution of hemoglobin A_{1c} after oral glucose

Lancet 2; 431, 1978

90 Martius, G.;

Lehrbuch der Geburtshilfe

Stuttgart 1977; 9. Auflage

91 Mauer, M.S.; Steffens, M.W.; Sutherland, D.E.R.; Najarian, J.S.; Michael, A.F.; Brown, D.M.;

Studies of the rate of regression of the glomerular lesions in diabetic rats treated with pancreatic islet transplantation

Diabetes 24; 280, 1975

92 McDonnald, J.M.; Shapiro, R.; Bleichman, M.; Solway, J.; Bunn, H.F.;

Glycosylated minor components of human adult hemoglobin

J.Biol.Chem. 253; 2327, 1978

93 McDonnals, J.M.; Davis, J.E.;

Glycosylated hemoglobins and diabetes mellitus

Human pathology 10; 279, 1979

94 Mehnert, H.; Förster, H.;

Stoffwechselkrankheiten

Stuttgart 1975, 2. Auflage

95 Mehnert, H.; Schöffling, K.;
Diabetologie in Klinik und Praxis
Stuttgart 1974

96 Miss, H.D.; Jahnke, K.;
Zur Differentialdiagnose der Hyperlipämie
bei Diabetes Mellitus
Verh.Dtsch.Ges.inn.Med. 76; 415, 1976

97 Mittenecker, E.;
Planung und statistische Auswertung
von Experimenten
Wien 1970, 8. Auflage

98 Niederau, C.M.; Potthoff, S.; Gries, F.A.;
Reinauer, H.;
Zum Aussagewert von glykosylierten Hämoglobinen
bei Diabetes Mellitus und bei Gravidität
Lab.med. 4; 9, 1980

98a Niederau, C.M.; Herbertz, L.; Reinauer, H.;
Estimation of the aldimine and ketoamine form
of fast haemoglobin in diabetic patients
Diabetologia 19; 302, 1980

99 Paulsen, E.P.;
Hemoglobin A_{1c} in childhood diabetes
Metabolism 22; 269, 1973

100 Paulsen, E.P.; Koury, M.;
Hemoglobin A_{1c} levels in insulin dependent
and independent diabetes mellitus
Doabetes 25 (suppl.); 890, 1976

101 Peterson, Ch. M.; Koenig, R.J.; Jones, R.L.; Saudek, Ch.; Cerami, A.;

Correlation of serum triglyceride levels and hemoglobin A_{1c} concentrations in diabetes mellitus

Diabetes 26; 507, 1977

102 Peterson, Ch.M.; Jones, R.L.;

Minor hemoglobins, diabetic "control" and diseases of postsynthetic protein modifiction

Ann.Int.Med. 87; 489, 1977

103 Petrides, P.; Weiss, L.; Löffler, G.; Wieland, O.H.;

Diabetes Mellitus

Berlin, Wien 1976, 3. Auflage

104 Pirart, J.;

Diabetes Mellitus and its degenerative complications :
a retrospective study of 4400 patients observed between 1947 and 1973

Diabetes Care 1; 168 - 188, 252 - 263, 1978

105 Rahbar, S.;

An abnormal hemoglobin in red cells of diabetics

Clin.Chim. Acta 22; 296, 1968

106 Rahbar, S.; Blumenfeld, O.; Ranney, H.M.;
Studies of an unusual hemoglobin in patients with diabetes mellitus
Biochem.Biophys.Res.Comm. 36; 838, 1969

107 Rappoport, S.M.; Guest, G.M.;
Decomposition of diphosphoglycerate in acidified blood :
its relationship to reactions of glycolytic cycle
M.J.Biol.Chem. 129; 781, 1939

108 Rappoport, S.M.;
Medizinische Biochemie
Berlin 1977, 7. Auflage

109 Rick, W.;
Klinische Chemie und Mikroskopie
Berlin, Heidelberg, New York 1977, 5, Auflage

110 Rosenthal, M.A.;
The effect of temperatur on the fast hemoglobin test system
Hemoglobin 3; 215, 1979

111 Saibene, V.; Brembilla, I.; Bertolleti, A.; Pozza, G.;
Combined OGTT and glycosylated haemoglobins detection for carbohydrate intolerance diagnoses
Diabetologia 15; 267, 1978

112 Santiago, J.V.; Davis. J.E.; Fisher, F.;

Hemoglobin A_{1c} levels in a diabetes detection program

J.Clin.Endocrinol.Met. 47; 578, 1978

113 Santiago, J.V.; Davis, J.E.; Grant, D.; Heins, J.;

Hemoglobin A_{1c} as a screening test for diabetes mellitus

Clin.Res. 26 A; 684 A, 1978

114 Schlierf, G.; Kahlke, W.;

Fettstoffwechsel
in W.Siegenthaler (Hrsg.)
Klinische Pathophysiologie

Stuttgart 1976, 3. Auflage

115 Schoos, R.; Schoos - Barbette, S.; Lambotte, C.;

Dosage of hemoglobin A_{1c} by electrofocusing

Clin.Chim. Acta 86; 61, 1978

116 Siperstein, M.D.; Unger, R.H.; Madison, L.L.;

Studies of muscle capilarry basement membranes in normal subjects and prediabetic patients

J.Clin.Invest. 47; 1973, 1968

117 Sonnenberg, G.E.; Eichholz, U.; Broermann, Ch.; Berger, M.;

Short term response of Hb A_1 to glucose levels in vitro on the assay method employed

Diabetologia 19; 316, 1980

118 Spicer. K.M.; Allan, R.C.; Buse, M.G.;

A simplified assay of hemoglobin A_{1c} in diabetic patients by use of isoelectric focusing and quantitive microdensitometrie

Diabetes 27; 384, 1978

119 Spicer, K.M.; Allan, R.C.; Hallett, D.; Buse, M.G.;

Synthesis of hemoglobin A_{1c} and related minor hemoglobins by erythrocytes in vitro study of regulation

J.Clin.Invest. 64; 40, 1979

120 Spiro, R.G.; Spiro, M.J.;

The carbohydrate of the glomerular basement membrane : structure and enzymetic assay

Diabetes 17; 311, 1968

121 Stantan, K.G.; Davis, R.E.;

The relationship between the control of diabetes mellitus und circulating glycosylated hemoglobin A_1

Aust.N.Z.Med. 8; 400, 1978

122 Stevens, V.J.; Rouzer, C.A.; Monnier, U.M.;
Cerami, A.;
Diabetic cataract formation :
potential role of glycosylation of Lens cristallins
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 75; 2918 - 2922, 1978

123 Stevens, V.J.; Vlassara, H.; Abati, A.;
Cerami, A.;
Nonenzymatic glycosylation of hemoglobin
J.Biol.Chem. 252; 2998, 1977

124 Svendsen, P.A.; Christiansen, J.S.; Welinder, B.;
Nerup, J.;
Fast glycosylation of hemoglobin
Lancet 2; 603, 1979

124a Svendsen, P.A.; Welinder, B.; Nerup, J.;
The significance of rapid changes in Hb A_{1c}
Diabetologia 19; 318, 1980

125 Tattersall, R.B.; Pyke, D.A.; Ranney, H.M.;
Bruckheimer, S.M.;
Hb - components in diabetes mellitus
studies in identical twins
N.Engl.J.Med. 293; 1171, 1975

126 Toeller, M.; Gries, F.A.; Schleppinghoff, B.;
Berger, M.; Danehl, K.;
Massive Adipositas mit gestörter Glokusetoleranz :
eine Verlaufsstudie über 10 Jahre
DMW 104; 43, 1975

127 Trivelli, L.A.; Ranney, H.M.; Lai, H.T.;

Hemoglobin components in patients with diabetes mellitus

N.Engl.J.Med. 254; 353, 1971

128 Tchoubroutsky, G.;

Relation of diabetic control to developement of microvascular complications

Diabetologia 15; 143 - 152, 1978

129 Vague, P.; Vovan, L.; Vialettes, B.; Boustieres, N.;

During which period of time is glycemia integrated by glycosylated hemoglobin (Hb A_{1c}) concentration

Diabetologia 14; 277, 1978

130 Vogelberg, K.H.; Gries, F.A.; Jahnke, K.;

Diabetes Mellitus und Hyperlipoproteinämien
in K. Oberdisse (Hrsg.)
Handbuch der inneren Medizin
Band 7, Teil 2 B,

Berlin, Heidelberg, New York 1977, 5. Auflage

131 Welch, S.G.; Boucher, B.J.;

A rapid micro - scale method for the measurement of Hb A_{1a+b+c}

Diabetologia 14; 209, 1978

132 Welch, S.G.;

Fast glycosylation of haemoglobin

Lancet 2; 728, 1979

133 Widness, J.A.; Schwartz, R.; Thompson, D.; Tsuboi, K.K.; Reynolds, W.A.; Chez, R.A.; Schwartz, H.C.;

Haemoglobin A_{1c} in the glucose - intolerant streptozin - treated or pancreatectomized macaque monkey

Diabetes 27; 1182, 1978

134 Winterhalter, K.H.; Glatthar, B.;

Intermediates of hemoglobin and their relation to biosynthesis

Ser.Haematol. 4; 84, 1971

135 Zipper, H.; Mawe, R.C.;

The exchange and maximal net flux of glucose across the human erythrocyte :
I.The effect of insulin, insulin derivates and small proteins

Biochim.Biophys.Acta 282; 311 - 325, 1972

Herrn Professor Dr. H. Zimmermann danken wir an dieser Stelle dafür, daß er uns die Durchführung der Arbeit an der Medizinischen Klinik E ermöglicht hat.

Unser besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. M. Berger für die Überlassung des Themas und die wertvolle Unterstüzung und Betreuung bei der Planung und Durchführung der Bearbeitung.

Bei Frau Dr. G.E. Sonnenberg bedanken wir uns für die unermüdliche Beratung bei der Auswertung und Zusammenstellung der Ergebnisse.

Frau M. Schütte, Frau Ch. Broermann und Frau U. Schäfer sind wir für ihre Mitarbeit bei der Durchführung des praktischen Teils dankbar.

Frau I. Hansen, Frau H. Schubert und Frau G. Gösseringer aus der Ernährungsambulanz der Medizinischen Klinik E danken wir für ihre Unterstützung bei der Untersuchung übergewichtiger Patienten.

Bei der Firma Panchem GmbH in Kleinwallstadt bedanken wir uns für die freundliche Unterstützung beim Zustandekommen der Arbeit.

Lebenslauf

7. März 1953
in Niederschelden geboren

9. April 1959
Einschulung in die Volksschule Niederschelden

17. April 1963
Aufnahme in die Realschule Eiserfeld

22. Juni 1968
Zeugnis der mittleren Reife

1. Januar 1969 bis 31. März 1970
Krankenhauspflegepraktikum

14. Mai 1969 bis 18. März 1970
Hauswirtschaftliche Berufsschule Siegen

1. April 1970 bis 15. März 1972
Lehranstalt für Medizinisch Technische Assistentinnen in Siegen

1. April 1972 bis 30. September 1972
praktische Tätigkeit in Labor und Röntgenabteilung der DRK - Kinderklinik Siegen

1. Oktober 1973 bis 31. July 1974
Tätigkeit an der DRK - Kinderklinik in Siegen als Medizinisch Technische Assistentin

1. August 1973
Aufnahme in das Siegerland Kolleg Hüttental-Weidenau

16. Dezember 1975
Reifeprüfung am Siegerland Kolleg

Seit dem 26. April 1976
Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf

22. März 1978
Ablegung der Ärztlichen Vorprüfung

22. März 1978
Ablegung des ersten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung

20. März 1979
Ablegung des zweiten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung

Seit dem 26. April 1981
Studentin im Praktischen Jahr an den Städtischen Kranken=
anstalten Krefeld

Düsseldorf, den 2. Dezember 1981

Annedore Molly

Lebenslauf

12. August 1951
in Büderich bei Düsseldorf geboren

18. April 1958
Einschulung in die Katholische Volksschule Büderich

1. April 1962
Aufnahme in das Städtische Comenius-Gymnasium Düsseldorf

28. Mai 1971
Reifeprüfung am Comenius-Gymnasium

1. Oktober 1971 bis 31. Dezember 1972
Ableistung des Grundwehrdienstes bei der Bundeswehr

10. April 1973 bis Ende Sommersemester 1976
Studium der Rechtswissenschaften an der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

17. Oktober 1975 bis Ende Sommersemester 1976
zusätzlich Studium der Medizin an der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

11. November 1976 bis Ende Sommersemester 1977
Studium der Medizin an der
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt

31. August 1977
Ablegung der Ärztlichen Vorprüfung

Seit dem 1. Oktober 1977
Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf

31. August 1978
Ablegung des ersten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung

22. August 1980
Ablegung des zweiten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung

Oktober 1980 bis September 1981
Student im Praktischen Jahr am Lukas-Krankenhaus in Neuss

5. November 1981
Ablegung des letzten Abschnitts der Ärztlichen Prüfung

Seit dem 1. Dezember 1981
Assistenzarzt in der Medizinischen Klinik des
Ferdinand-Sauerbruch Klinikums der Stadt Wuppertal

Düsseldorf, den 2. Dezember 1981

Hans-Jürgen Siebeck